



**Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas**

**PARASITISMO POR *TYLODELPHYS* SP. EN PECES DULCEACUÍCOLAS
DEL CENTRO-SUR DE CHILE Y SU EFECTO SOBRE EL NICHOS ISOTÓPICO
DE LOS PECES HOSPEDADORES**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas para
optar al título profesional de Bióloga

POR LAURA JOSEFA HABIT VICTORIANO

Profesor Guía Dr. Konrad Górski

Abril de 2023
Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Quien suscribe, Laura Josefa Habit Victoriano, RUT 20.258.372-5, alumna de la carrera de Biología, de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, de la Universidad de Concepción, declara ser autor de la tesis presentada a la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas para optar al título profesional de Bióloga titulada PARASITISMO POR TYLODELPHYS SP. EN PECES DULCEACUÍCOLAS DEL CENTRO-SUR DE CHILE Y SU EFECTO SOBRE EL NICHOS ISOTÓPICO DE LOS PECES HOSPEDADORES y conceder derecho de publicación, comunicación al público y reproducción de esa obra, en forma total o parcial en cualquier medio y bajo cualquier forma del mismo, a la Universidad de Concepción, Chile, para formar parte de la colección material o digital de cualquiera de las bibliotecas de la Universidad de Concepción y del Repositorio UDEC. Esta autorización es de forma libre y gratuita, y considera la reproducción de la obra con fines académicos y de difusión tanto nacional como internacionalmente.

Asimismo, quien suscribe declara que dicha obra no infringe derechos de autor de terceros.



.....
Laura Josefa Habit Victoriano

RUT 20.258.372-5

AGRADECIMIENTOS

Gracias,

A quienes me acompañan, incluso sin saberlo, cuando el fin de semana dura 20 años.



TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	IX
1 RESUMEN	XI
2 ABSTRACT.....	XIII
3 INTRODUCCIÓN	1
4 MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1 Área de estudio.....	11
4.2 Recolección de muestras	13
4.3 Procesamiento de muestras	14
4.4 Análisis de datos.....	16
5 RESULTADOS	20
5.1 Patrones de infección por <i>Tylodelphys</i> sp.	20
5.2 Similitud de señales isotópica de las líneas de base entre sitios de muestreo.....	24
5.3 Diferencias en el nicho isotópico entre especies de pez	25
5.4 Variaciones en el nicho isotópico de peces asociadas a infecciones por <i>Tylodelphys</i> sp.....	28
5.5 Asociación entre intensidad de las infecciones por <i>Tylodelphys</i> sp. y nicho isotópico de su hospedador	31
5.5.1. Intensidad parasitaria y amplitud de nicho isotópico ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$)	36

5.5.2 Intensidad parasitaria y posición de nicho isotópico ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$) .	37
6 DISCUSIÓN	44
6.1 <i>Basilichthys microlepidotus</i> y <i>Galaxias maculatus</i> son las principales especies hospedadoras de <i>Tylodelphys</i> sp.	44
6.2 Caracteres ecológicos de los peces y su asociación a infecciones por <i>Tylodelphys</i> sp.	46
6.3 Infecciones por <i>Tylodelphys</i> sp. están asociadas a la reducción de la posición trófica y la amplitud de nicho isotópico.	50
6.4 Implicancias de la modificación del nicho de peces dulceacuícolas chilenos modulada por <i>Tylodelphys</i> sp.	55
7 CONCLUSIONES	60
8 BIBLIOGRAFÍA	62
9 ANEXO.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de individuos por categoría de intensidad parasitaria por especie.	23
Tabla 2. Área total (TA) y área elíptica estándar (SEA) de las proyecciones elípticas de los nichos isotópicos de <i>Basilichthys microlepidotus</i> (Bmi), <i>Galaxias maculatus</i> (Gm) y <i>Percichthys trucha</i> (Pt), según presencia o ausencia de infección parasitaria por <i>Tylodelphys</i> sp.	30
Tabla 3. Índices TA_R y SEA_R calculados para las especies <i>Basilichthys microlepidotus</i> (Bmi), <i>Galaxias maculatus</i> (Gm) y <i>Percichthys trucha</i> (Pt).	30
Tabla 4. Resultados de PERMANOVA pareado (valores p) de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de categorías de intensidad de infecciones por <i>Tylodelphys</i> sp.	33
Tabla 5. Área de las proyecciones elípticas del nicho isotópico	37
Tabla A1. Indicadores parasitarios.	70
Tabla A2.	71
Tabla A3. Tipos y número total de endoparásitos extraídos de cada especie de pez.	72
Tabla A4. Resultados de PERMANOVA pareado (valores p) de $\delta^{13}C$ y $\delta^{15}N$ de organismos de línea base de cada río.	73

Tabla A5. Número total de organismos recolectados de cada categoría y subcategoría de línea base por río.	74
Tabla A6. Resumen de los análisis de varianza permutacional (PERMANOVA) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ realizados para cada categoría de organismos de línea base, según el factor río de origen.	75
Tabla A7. Resumen de los análisis de varianza permutacional (PERMANOVA) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ realizados para las categorías de organismos de línea base, según los subgrupos descritos para cada una.....	75
Tabla A8. Resultados de PERMANOVA pareado (valores p) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de especies de peces	76
Tabla A9. Resultados marginales de las DistLM realizadas con las variables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰).....	76
Tabla A10. Resultados marginales de las DistLM realizadas para las especies <i>Basilichthys microlepidotus</i> (Bmi) y <i>Galaxias maculatus</i> (Gm) con las variables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰).....	77
Tabla A11. Posición trófica promedio basada en $\delta^{15}\text{N}$ (‰) \pm SD de cada categoría de intensidad parasitaria de cada especie.	77

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Sitios de muestreo	12
Figura 2. Proporción de individuos infectados y no infectados de cada especie en cada río, y el número total de larvas metacercarias de <i>Tylodelphys</i> sp. contabilizadas por especie de pez y por río.....	22
Figura 3. Proyecciones elípticas del nicho isotópico de <i>Basilichthys microlepidotus</i> (Bmi), <i>Galaxias maculatus</i> (Gm) y <i>Percichthys trucha</i> (Pt) en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$)	27
Figura 4. Proyecciones elípticas del nicho isotópico de peces infectados por <i>Tylodelphys</i> sp. y no infectados en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$).	29
Figura 5. Proyecciones elípticas elaboradas con un intervalo de confianza del 0,95 del nicho isotópico conjunto de peces hospederos de <i>Tylodelphys</i> sp. clasificados según grupos de intensidad parasitaria.....	34
Figura 6. Proyecciones elípticas del nicho isotópico en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$) de <i>Basilichthys microlepidotus</i> (Bmi), <i>Galaxias maculatus</i> (Gm) y <i>Percichthys trucha</i> (Pt) clasificados según la intensidad de sus infecciones por el parásito <i>Tylodelphys</i> sp., elaboradas con un intervalo de confianza del 0,40.....	35

Figura 7. Promedio \pm SD de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de los peces hospedadores de <i>Tylodelphys</i> sp., clasificados según categorías de intensidad de infección.....	39
Figura 8. Posición trófica promedio basada en $\delta^{15}\text{N}$ ‰ de cada categoría de intensidad parasitaria por especie de pez.....	40
Figura 9. Promedio \pm SD de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de peces categorizados según la intensidad parasitaria y categorías de organismos de línea base.	42
Figura 10. Promedio \pm SD de los valores $\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de los organismos de línea base categorizados según su origen (acuático/terrestre) y de los peces recolectados.....	43
Figura A1. Gráfico de dispersión de composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de los peces recolectados categorizados según intensidad de infección por <i>Tylodelphys</i> sp. y de organismos de línea base.	78
Figura A2. Gráfico de dispersión de composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de cada pez recolectado, según río de origen y especie	79
Figura A3. Gráfico de dispersión de composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de cada pez recolectado, según especie e intensidad parasitaria.....	80

1| RESUMEN

La transmisión trófica aumentada por parásitos (en inglés, parasite increased trophic transmission o PITT) corresponde al aumento de la probabilidad de que un hospedador infectado sea depredado, dado los cambios conductuales o fenotípicos que son inducidos por dicha infección. Esto aumenta el éxito reproductivo de parásitos de ciclo de vida complejo que involucran la transmisión trófica del parásito entre hospedadores. La presencia de este fenómeno en un ecosistema puede promover la reestructuración de sus redes tróficas, modificando dinámicas presa-depredador y promoviendo la especialización del nicho trófico de hospedadores manipulados por el parásito. Estos efectos pueden ser estudiados mediante la cuantificación del nicho ecológico a partir de la composición isotópica de los tejidos de un organismo, que se conoce como nicho isotópico. El fenómeno PITT fue descrito en la relación entre el parásito intracraneal *Tylodelphys* sp. y el pez dulceacuícola nativo chileno *Galaxias maculatus*, y, más recientemente, se determinó que estas infecciones están ligadas a variaciones en el nicho isotópico de este pez. Considerando lo anterior, y que *Tylodelphys* sp. se ha encontrado parasitando varias especies de peces, incluyendo especies abundantes y ampliamente distribuidas en Chile (*Basilichthys microlepidotus*, *Percichthys trucha*, *Diplomystes nahuelbutaensis*, *Geotria australis* y *Cheirodon galusdae*), es posible que *Tylodelphys* sp. tenga un

papel importante en la estructuración de las redes tróficas dulceacuícolas de los ríos de centro-sur de Chile. Con la finalidad de describir la prevalencia e intensidad de las infecciones por *Tyloodelphys* sp. en peces dulceacuícolas del centro-sur de Chile y sus efectos sobre el nicho isotópico de estas especies, se realizaron muestreos en ríos de las cuencas hidrográficas de los ríos Biobío e Imperial (37°-39° latitud sur). Se recolectaron tanto peces de las 6 especies mencionadas, los cuales fueron examinados para determinar el número de larvas de *Tyloodelphys* sp. en cada uno, como organismos correspondientes a la línea base isotópica de cada río. Se obtuvo la composición isotópica de carbono y nitrógeno ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de cada muestra y se modeló el nicho isotópico de los peces. En el presente estudio se evidencia que la intensidad de las infecciones por *Tyloodelphys* sp. está asociada a la variación en el nicho isotópico de sus hospedadores. *Basilichthys microlepidotus*, *G. maculatus* y *P. trucha* cumplen el mismo patrón general de respuesta al aumento de la intensidad parasitaria, disminuyendo la amplitud de sus nichos y sus posiciones tróficas, independientemente de las diferencias ecológicas que existan entre ellas. Adicionalmente, este es el segundo estudio en el que se registra que el nicho de *G. maculatus* infectado por *Tyloodelphys* sp. es más amplio que el del grupo no infectado, al igual que el del grupo de peces con baja intensidad parasitaria, lo que corresponde a una novedad dentro de la teoría de divergencia de nicho mediada por parásitos. Se recalca la necesidad de incluir especies de parásitos en estudios ecológicos.

2| ABSTRACT

Parasite increased trophic transmission (PITT) is the increased probability that an infected host will be predated, given the behavioral or phenotypic changes that are induced by such infection. This increases the reproductive success of complex life cycle parasites that involve trophic transmission of the parasite between hosts. The presence of this phenomenon in an ecosystem can promote the restructuring of trophic networks, by modifying prey-predator dynamics and promoting the specialization of the trophic niche of the hosts manipulated by the parasite. These effects can be studied by quantifying the ecological niche from the isotopic composition of the tissues of an organism, known as the isotopic niche. The PITT phenomenon was described in the relationship between the intracranial parasite *Tylodelphys* sp. and the native Chilean freshwater fish *Galaxias maculatus*, and, more recently, it was determined that these infections are linked to variations in the isotopic niche of this fish. Considering the above, and that *Tylodelphys* sp. has been found infecting several fish species, including abundant and widely distributed species in Chile (*Basilichthys microlepidotus*, *Percichthys trucha*, *Diplomystes nahuelbutaensis*, *Geotria australis* and *Cheirodon galusdae*), it is possible that this parasite has an important role in the structuring of freshwater food webs in the rivers of central-southern Chile. In order

to describe the prevalence and intensity of infections by *Tylodelphys* sp. in freshwater fish from central and southern Chile and their effects on the isotopic niche of these species, samples were collected in the Biobío and Imperial river basins (37°-39° latitude South). Muscle tissue samples of the most frequent host fish *B. microlepidotus*, *P. trucha*, and *G. maculatus* as well as a variety of plants and animals that cohabit with these species (isotopic baseline) were collected. Carbon and nitrogen isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of each sample was obtained, and the fish were examined to determine the prevalence and intensity of *Tylodelphys* sp. infections. The present study shows that the intensity of *Tylodelphys* sp. infections is associated with the variation in the isotopic niche of their hosts. *Basilichthys microlepidotus*, *G. maculatus* and *P. trucha* follow the same general pattern of response to increasing parasite intensity, decreasing their niche breadth and trophic positions, independently of the ecological differences among them. Additionally, this is the second study to record that the isotopic niche of *G. maculatus* infected by low abundances of *Tylodelphys* sp. is wider than that of uninfected fish, providing not previously reported finding within the theory of parasite-mediated niche divergence. The need to include parasite species in ecological studies including food-web analyses is emphasized.

3| INTRODUCCIÓN

Los parásitos se han estudiado históricamente como agentes dañinos en los ecosistemas, principalmente en torno a los efectos negativos que tienen sobre sus hospedadores (Hatcher et al. 2012). Sin embargo, en la última década se ha comenzado a enfatizar la importancia de estos organismos para la estructura y la salud del ecosistema, dado su rol en la mediación de relaciones de competencia y depredación (Hatcher et al. 2012; Marcogliese 2005). Lafferty (1999) define una de las maneras en las que los parásitos median las relaciones de depredación, acuñando el concepto de transmisión trófica aumentada por parásitos (en inglés, parasite increased trophic transmission o PITT). Este fenómeno corresponde al aumento de la probabilidad de que un hospedador infectado sea depredado, dado los cambios conductuales o fenotípicos que son inducidos por dicha infección (Rogawa et al. 2018; Lafferty 1999). Esto aumenta el éxito reproductivo de los parásitos de ciclo de vida complejo que involucran la transmisión trófica del parásito entre hospedadores (Lafferty 1999). Los alcances de los efectos de esta estrategia son amplios, teniendo consecuencias a nivel de individuo, poblaciones, comunidades e incluso a nivel ecosistema, siendo capaces de modificar las propiedades físicas y químicas de este último (Timi & Poulin 2020; Hatcher et al. 2012). La manipulación parasítica está extensamente

representada en grupos de metazoos y protozoos, y posee un rol en la estabilización de poblaciones en sistemas depredador-presa (Ruehle & Poulin 2019; Rogawa et al. 2018). Además, los parásitos manipuladores juegan un rol como ingenieros ecosistémicos (Thomas et al. 2005). Ya que el fenómeno PITT tiene tantas implicancias en las interacciones de depredación que ocurren en un ecosistema, estudiar la estructura de redes tróficas considerando el efecto de los parásitos manipuladores resulta esencial para hacer una descripción correcta de dichas relaciones (Britton & Andreou 2016).

Una de las maneras a través de las cuales es posible discernir los alcances del fenómeno PITT sobre una red trófica es mediante el estudio del nicho isotópico de los organismos involucrados. Éste ha sido definido por Newsome et al. (2007) como un espacio multidimensional donde los ejes corresponden a valores de proporciones isotópicas (valores δ), los cuales permiten inferir sobre la ecología de un sistema. Los isótopos forman parte de los tejidos de un organismo en distintas proporciones según los procesos fisiológicos que llevan a cabo (Pulkkinen et al. 2016). Por lo tanto, estas proporciones pueden variar con los cambios en la alimentación, las migraciones y las condiciones fisicoquímicas del ambiente en el que se desarrollan (Lescord et al. 2019; Britton & Andreou 2016; Pulkkinen et al. 2016; Knudsen et al. 2014; Britton et al. 2011; Newsome et al. 2007; Fry 2006; Post 2002; Hobson 1999). De esta manera, cuando es posible eliminar la variación isotópica causada por factores físicoquímicos ambientales, éstas pueden ser utilizadas para inferir sobre las relaciones que se dan dentro de

una red trófica (conjunto de relaciones entre cadenas tróficas; Hette-Tronquart 2019; Pulkkinen et al. 2016). Los isótopos de nitrógeno (N) y carbono (C) son los más utilizados para estos fines, pues permiten determinar la posición de un organismo en una cadena trófica y la composición de su dieta integrada a lo largo de un periodo de tiempo (Manosalva et al. 2021; Pulkkinen et al. 2016; Dubois et al. 2009; Newsome et al. 2007; Fry 2006; Post 2002). Al evaluar la posición y el área (o amplitud) del nicho de un grupo de individuos en un espacio bidimensional de $\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$ (‰), es posible inferir sobre el tipo y la diversidad de alimentos que consumen los organismos, en relación a la oferta alimentaria existente o línea base (Hette-Tronquart 2019; Newsome et al. 2007; Fry 2006; Post 2002). Una línea base isotópica es un punto inicial referencial necesario para el estudio de interacciones tróficas basadas en isótopos. Esta corresponde a la composición isotópica de los niveles tróficos inferiores al grupo de interés (Mullineaux et al. 2022; Hette-Tronquart 2019).

Se ha comprobado que los parásitos causan diferencias en la composición isotópica de los tejidos de sus hospedadores a través de la comparación del nicho isotópico de hospedadores parasitados y no parasitados (Britton & Andreou 2016; Maceda-Veiga et al. 2016; Pulkkinen et al. 2016; Britton et al. 2011; Dubois et al. 2009; Newsome et al. 2007). En sistemas parásito-hospedador donde ocurre el fenómeno PITT, la manipulación del parásito sobre el hospedador puede conllevar una mayor diferencia en el nicho isotópico del hospedador, en comparación a sistemas donde no ocurre PITT. Así, los parásitos que modifican

el tiempo, lugar o capacidad de forrajeo de su hospedador pueden alterar la alimentación de su hospedador, provocando un cambio en su composición isotópica (Britton & Andreou 2016). De esta forma, es posible inferir sobre las consecuencias ecológicas de las infecciones por parásitos manipuladores de conducta a través de la composición isotópica de sus hospedadores.

Las especies del género *Tylodelphys* (Digenea: Diplostomatidae) han sido registradas como parásitos capaces de manipular la conducta de sus segundos hospedadores intermediarios (Ruehle & Poulin 2019; McCloughlin 2016; Stumbo & Poulin 2016; Grobbelaar et al. 2014; Galaktionov & Dobrovolskij 2003; Chappell 1995). *Tylodelphys* es un género de tremátodos parásitos con distribución a nivel mundial, cuyas especies requieren de tres hospedadores para completar su ciclo de vida: un molusco, un pez (o en algunos casos un anfibio) y un ave (Ruehle & Poulin 2019; McCloughlin 2016; Grobbelaar et al. 2014; Galaktionov & Dobrovolskij 2003; Chappell 1995). La fase larval capaz de infectar peces corresponde a una larva cercaria de vida libre, la cual, tras emerger del hospedador molusco, debe encontrar un pez y penetrar activamente sus tejidos (van Beest et al. 2019; Galaktionov & Dobrovolskij 2003; Revenga & Scheinert 1999a). Varios autores han reportado que peces de mayores tallas tienden a portar un mayor número de larvas de *Tylodelphys* sp. (Ruehle & Poulin 2019; Flores & Semenas 2002; Revenga & Scheinert 1999a, 1999b). Sin embargo, otros autores han señalado que dicha correlación no es generalizable, dado que la prevalencia e intensidad de las infecciones varían cíclicamente en el transcurso

de un año (McCloughlin 2016; Chappell 1995; Kennedy 1981). Una vez que la larva cercaria penetra en el pez, metamorfosea a metacercaria y se mantienen dentro de los ojos o en la cavidad craneal hasta que el hospedador sea depredado. En ese momento, el parásito intenta establecerse en el sistema digestivo del depredador u hospedador definitivo (López-Rodríguez et al. 2021; Stumbo & Poulin 2016; Grobbelaar et al. 2014). Las larvas metacercarias de este género no se encuentran enquistadas, sino que son capaces de moverse libremente dentro del pez (hospedador intermediario), actividad que ha sido asociada a cambios conductuales de los peces infectados (Ruehle & Poulin 2019; Affonso et al. 2017; Stumbo & Poulin 2016; Grobbelaar et al. 2014; Galaktionov & Dobrovolskij 2003; Chappell 1995). Dichos cambios facilitan el proceso de depredación de los peces portadores del parásito, aumentando la probabilidad de que el ave hospedadora sea infectada. Considerando lo anterior, es posible señalar que ocurre el fenómeno PITT en la relación entre los parásitos del género *Tylodelphys* y sus hospedadores, específicamente en el proceso para alcanzar la infección de un ave.

En Chile, el género *Tylodelphys* ha comenzado a ser estudiado en profundidad solo recientemente. George-Nascimento et al. (2020) registraron este género infectando el pez dulceacuícola *Galaxias maculatus* (Jenyns 1842) en ríos, lagos y estuarios de Chile, entre los 38° y 47° latitud sur. En dicho estudio, los parásitos identificados como *Tylodelphys* sp., encontrados habitando la cavidad craneal de *G. maculatus*, resultaron ser los de mayor prevalencia y abundancia entre los

parásitos encontrados en esta especie (George-Nascimento et al. 2020). La presencia de parásitos del género *Tylodelphys* ha sido ampliamente estudiada en la Patagonia Argentina, sin embargo, antes del estudio de George-Nascimento et al. (2020), las infecciones por *Tylodelphys* sp. no habían sido bien registradas en el territorio chileno (George-Nascimento et al. 2020; Flores & Semenas 2002). Previamente, estos parásitos habían sido descritos en Chile en las especies de peces *Basilichthys microlepidotus* (Jenyns 1841), *Brachygalaxias bullocki* (Regan 1908) y *Percichthys trucha* (Valenciennes 1833), aunque en áreas de estudio limitadas, y en un bajo número de peces (Viozzi & Flores et al. 2008; Murillo, 2003; Siegmund et al. 1997). Posteriormente, López-Rodríguez et al. (2021) registraron que ocurre el fenómeno PITT en la relación entre *Tylodelphys* sp. y *G. maculatus* en Chile. En dicho estudio se describió que los peces infectados por estos parásitos reaccionan en menor medida a un ataque simulado de un depredador (Lopez-Rodriguez et al. 2021). Además, al evaluar el tiempo de nado de los peces a distintas profundidades, se observó que los individuos infectados tienden a nadar significativamente más tiempo cerca de la superficie del agua que aquellos no infectados (Lopez-Rodriguez et al. 2021). Los cambios de conducta descritos hacen más propensos a los individuos infectados por *Tylodelphys* sp. a ser depredados por aves (Lopez-Rodriguez et al. 2021; Seppala 2004).

Habit et al. (2021) exploraron los impactos ecológicos de la manipulación conductual en este sistema parásito-hospedador mediante el estudio del nicho

isotópico de *G. maculatus*. En dicho estudio se señala que existen diferencias significativas entre el nicho isotópico de *G. maculatus* infectados por *Tylodelphys* sp. y los no infectados, presentando los peces infectados un nicho más amplio en el eje del carbono. Esto se relaciona con el consumo de una mayor variedad de fuentes alimenticias. Además, los peces con media o alta intensidad parasitaria presentaron nichos acotados a los valores más enriquecidos en ^{13}C , en contraste a aquellos con baja intensidad parasitaria, cuyos nichos fueron extensos en el eje del carbono.

Más recientemente, se han determinado otras especies de peces nativos dulceacuícolas que hospedan a *Tylodelphys* sp. (Rebolledo et al., datos no publicados). En las cuencas hidrográficas de los ríos Biobío e Imperial (entre 36° y 38° latitud sur) se detectaron 6 especies para las cuales uno o más individuos se encontraban infectados por *Tylodelphys* sp. (muestras de verano 2021). Estas especies fueron los peces *G. maculatus*, *B. microlepidotus*, *P. trucha*, *Cheirodon galusdae* Eigenmann 1927 y *Diplomystes nahuelbutaensis* Arratia 1987, además de la lamprea *Geotria australis* Gray 1851. Entre ellas, *G. maculatus*, *P. trucha*, *B. microlepidotus* y *G. australis* presentaron un mayor número de individuos infectados, aunque, las larvas encontradas en la especie de lamprea, *G. australis*, correspondieron a un morfotipo distinto. *Galaxias maculatus*, *P. trucha* y *B. microlepidotus* están ampliamente distribuidas en Chile y habitan tanto en ríos como en lagos. Además, *G. maculatus*, también habita en ambientes estuarinos, formando poblaciones residentes o migratorias (Ramírez-Álvarez et al. 2022;

Otturi et al. 2016, 2020; Delgado et al. 2019; Milano et al. 2013; Cazorla et al. 2011; Habit et al. 2010). Los peces de estas especies hacen uso de las zonas litorales para refugiarse y alimentarse, sobre todo aquellos en estados tempranos de desarrollo, aunque solo *G. maculatus* prefiere estos ambientes en su etapa adulta (Otturi et al. 2016; Vila et al. 1981). Por su parte, los individuos juveniles de *P. trucha* prefiere ambientes de gravilla o piedrecillas, de media o baja profundidad, mientras que los adultos pueden habitar a grandes profundidades en lagos (Ortiz-Sandoval et al. 2015). Por su parte, *B. microlepidotus* es un pez principalmente pelágico (Otturi et al. 2016; Vila et al. 1981). Si bien las tres especies tienen dietas bentófagas basadas principalmente en invertebrados como quironómidos y crustáceos, es de notar que *P. trucha* es un pez ictiófago, que *G. maculatus* posee una dieta generalista muy variable y que *B. microlepidotus* puede ser omnívoro (Manosalva et al. 2021; Otturi et al. 2020; Venegas & Espinoza 2018; Juncos et al. 2015; Milano et al. 2013; Vega et al. 2013; Murillo 2003). *Percichthys trucha* es el pez depredador nativo más abundante en los sistemas dulceacuícolas en Chile, pero tal como las otras dos especies, depende en gran parte del aporte alimenticio de macroinvertebrados bentónicos, principalmente en clases de tallas menores (Otturi et al. 2020; Fernández et al. 2018; Ortiz-Sandoval et al. 2015; Murillo 2003).

Considerando que *Tylodelphys* sp. ha sido encontrado parasitando varias especies de peces de Chile, y que se ha evidenciado que las infecciones por este parásito tienen importantes impactos sobre el nicho isotópico de *G. maculatus*,

es esperable que *Tylodelphys* sp. juegue un importante rol en la estructuración de las redes tróficas dulceacuícolas de Chile. Para dilucidar los efectos de fenómeno PITT en las redes tróficas dulceacuícolas de centro-sur de Chile, se proponen tres hipótesis enfocadas en evaluar los efectos de la presencia e intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. en el nicho isotópico de tres especies de peces hospedadores abundantes en ríos de esta zona:

1. La presencia de *Tylodelphys* sp. en un hospedador y la intensidad con la que se presentan sus infecciones tienen efectos significativos sobre la posición y amplitud de su nicho isotópico.
2. Los peces infectados por *Tylodelphys* sp. recurren a una mayor diversidad de fuentes alimenticias en comparación a los peces no infectados.
3. La modificación de los nichos isotópicos de *G. maculatus*, *P. trucha* y *B. microlepidotus* provocada por la infección por *Tylodelphys* sp. está modulada por sus hábitos alimenticios y uso de hábitat.

Se postula como objetivo general de esta investigación describir la prevalencia e intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. en especies de peces dulceacuícolas del centro-sur de Chile y sus efectos sobre el nicho isotópico de estas especies. Además, se plantean como objetivos específicos:

- Identificar los peces dulceacuícolas del centro-sur de Chile que hospedan el parásito *Tylodelphys* sp.

- Evaluar la relación entre la presencia e intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. y la posición y amplitud del nicho isotópico de sus peces hospedadores.
- Relacionar los caracteres ecológicos (alimentación, uso de hábitat) de las especies ícticas hospedadoras de *Tylodelphys* sp. con la prevalencia e intensidad de infecciones por *Tylodelphys* sp. que presentan sus poblaciones.
- Relacionar posición y amplitud del nicho isotópico con las fuentes de carbono a la que recurren los peces y la posición trófica de éstos.
- Relacionar los caracteres ecológicos de cada especie de pez con los cambios en sus nichos isotópicos producidos por *Tylodelphys* sp. para dilucidar las interacciones presentes en las redes tróficas de sistemas dulceacuícolas del centro-sur de Chile.

4| MATERIALES Y MÉTODOS

4.1| Área de estudio

El área de estudio está compuesta por las cuencas hidrográficas de los ríos Biobío e Imperial, las cuales se encuentran en el centro-sur de Chile, entre 37° y 39° latitud sur. Dentro de estas cuencas, se realizó un muestreo en los ríos Biobío, Laja y Renaico de la cuenca del río Biobío, y ríos Cautín y Vilcún en la cuenca del río Imperial, durante meses de verano de 2021 (Figura 1).

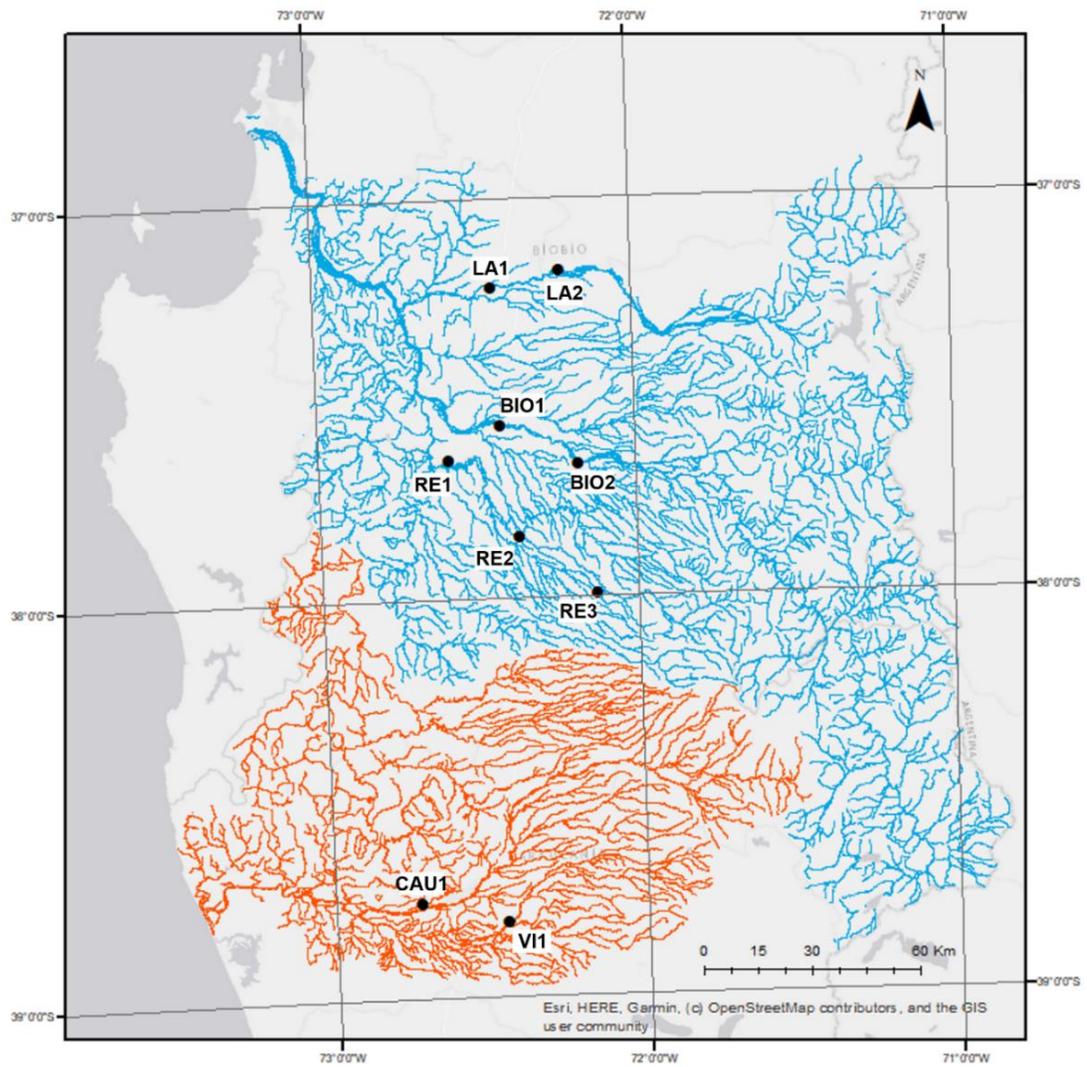


Figura 1. Sitios de muestreo, situados en la cuenca hidrográfica del río Biobío (azul) y del río Imperial (naranja), en los ríos Laja (LA1 y LA2), Biobío (BIO1 y BIO2), Renaico (RE1, RE2 y RE3), Cautín (CAU1) y Vilcún (VI1).

4.2| Recolección de muestras

En cada sitio se extrajeron peces mediante pesca de arrastre y/o pesca eléctrica, de acuerdo con la topología de cada sitio de muestreo, a modo de realizar un catastro de las especies ícticas, sus abundancias, tallas (en este caso se evaluó su longitud estándar, que es el largo del pez desde la boca hasta la base de la aleta caudal) y peso. De los peces extraídos, un máximo de 10 individuos de cada especie fue preservado en frío para su estudio en laboratorio, y los demás individuos capturados fueron devueltos a su hábitat. En el caso de especies en peligro de extinción, como *D. nahuelbutaensis*, todos los individuos fueron devueltos a su hábitat. Además, se tomaron muestras de distintos organismos acuáticos y terrestres, vegetales y animales, para establecer una línea base isotópica de cada río. Considerando que el foco de esta investigación son *B. microlepidotus*, *G. maculatus* y *P. trucha*, se muestrearon y clasificaron los organismos de línea base en cuatro categorías principales: macroinvertebrados, vegetales, seston y perifiton. Cada muestra fue, además, clasificada según su origen, en acuático o terrestre.

La vegetación ribereña, macroinvertebrados y perifiton se muestrearon de manera manual buscando representar la mayor diversidad presente. En el caso del seston se filtró el agua de río a través de redes de 20, 50 y 100 μm para obtener tres subgrupos de muestras según el tamaño de las partículas obtenidas (pequeño, mediano y grande, respectivamente). Cada muestra fue conservada

en frío para su posterior procesamiento para análisis de composición isotópica, separando una parte para ser fijada en etanol (en el caso de las muestras animales) o lugol (para las muestras vegetales) para su posterior identificación taxonómica al menor nivel taxonómico posible.

Las muestras de macroinvertebrados y vegetales fueron identificadas al menor nivel taxonómico posible en terreno y ratificadas en laboratorio. Los organismos macroinvertebrados fueron posteriormente agrupados en 5 subcategorías, en base a su función trófica, a partir de lo descrito por Ramírez & Gutiérrez-Fonseca (2014): recolectores, perforadores, depredadores, raspadores y fragmentadores. Por su parte, las muestras vegetales fueron agrupadas según el tipo de vegetal, en árboles (plantas leñosas) y otras plantas (incluye hierbas, pastos y arbustos). Adicionalmente, se hizo la distinción entre aquellos organismos vegetales capaces de fijar nitrógeno (dado, por ejemplo, una relación simbiótica con bacterias fijadoras de nitrógeno), en plantas fijadoras de nitrógeno y no fijadoras de nitrógeno, mediante análisis bibliográfico.

4.3| Procesamiento de muestras

En laboratorio, se evaluó la cantidad de larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp. en cada pez mediante la apertura y observación de su cavidad craneal bajo un estereomicroscopio Olympus SZ51 (Olympus, Tokio, Japón). Estas larvas fueron preservadas en etanol, paraformaldehído o bouin. Adicionalmente, se examinó el

tracto digestivo, hígado, gónadas, corazón, ojos, vejiga natatoria y cavidad celomática. Además, se revisó el sobrenadante de las muestras utilizando un tamiz de 300 μm , para identificar la presencia de otros parásitos en cada pez. Tras esto, se extrajo una muestra del músculo que se encuentra por sobre la columna vertebral, entre las aletas dorsal y caudal de cada individuo, y se procesó utilizando la metodología empleada por Vásquez-Castillo et al. (2021) para obtener muestras para análisis de isótopos. Se seleccionó músculo como tejido a analizar dado que su composición isotópica sirve como registro de la alimentación integrada a largo plazo, y es poco susceptible a cambios de corta duración en la dieta (Fry 2006). Cada muestra fue sometida a un proceso de extracción de lípidos para reducir la variabilidad de $\delta^{13}\text{C}$, mediante inmersión en 1 ml de diclorometano - metanol (2:1). Posteriormente se esperó su decantación y extrajo el sobrenadante con una pipeta. Este proceso se repitió varias veces, hasta que el líquido sobrenadante fue completamente transparente. Las muestras resultantes de este proceso fueron secadas a 60°C por 3 horas y posteriormente pulverizadas.

Las muestras de macroinvertebrados fueron procesadas de manera similar, a excepción de las muestras de artrópodos, cuyo procesamiento para la eliminación de carbono inorgánico (carbonato de calcio) incluyó el lavado de las muestras múltiples veces con ácido clorhídrico, eliminando el sobrenadante cada vez, hasta dejar de observar burbujeo en la solución. Por su parte, las muestras vegetales fueron secadas a 60°C por 48 horas y pulverizadas. Luego fueron

sometidas a un lavado en ácido clorhídrico de manera similar a las muestras de artrópodos, y vueltas a secar a 60°C por 48 horas.

Todas las muestras fueron depositadas en cápsulas de estaño individuales. Posteriormente fueron enviadas a las instalaciones Stable Isotope Facility de la Universidad de California Davis (EEUU) para ser analizados mediante un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas de flujo continuo (CF-IRMS). De esta forma, se obtuvieron los datos correspondientes a la composición isotópica de carbono y nitrógeno, los cuales se encuentran expresados como $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ en partes por mil (‰), en base a la siguiente ecuación:

$$\delta X = \left(\frac{R_{muestra}}{R_{estandar}} - 1 \right)$$

Donde X es la proporción en unidades delta (δ) con respecto a un estándar, y $R_{muestra}$ y $R_{estandar}$ son las proporciones isotópicas absolutas de la muestra y el estándar, respectivamente (Coplen 2011). El estándar utilizado para el cálculo del valor δ de carbono es Vienna PeeDee Belemnite (VPDB), y el utilizado para el del nitrógeno el N_2 atmosférico.

4.4| Análisis de datos

Los individuos de cada especie de pez fueron subdivididos según la presencia o ausencia de infecciones por *Tyloodelphys* sp., en Peces no Infectados (PNI) y

Peces Infectados (PI). Además, se subdividieron los peces infectados en 4 distintas categorías de intensidad parasitaria:

- Baja intensidad: peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp
- Media intensidad: peces infectados por entre 11 y 30 larvas
- Alta intensidad: peces infectados por entre 31 y 100 larvas
- Muy alta intensidad: peces infectados por 101 larvas o más

Con el objetivo de estimar el efecto de la intensidad parasitaria sobre la señal isotópica de los peces infectados, se utilizó modelación lineal basada en la distancia (DistLM) con criterio de selección de R^2 ajustado y con 9999 permutaciones (Anderson 2001; McArdle & Anderson 2001). DistLM es un análisis de regresión multivariada que usa permutación para probar la fuerza y significancia de las relaciones entre variables predictoras continuas y una matriz de semejanza basada en variables de respuesta (en este caso, $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$). En esta ocasión se utilizó el logaritmo del número de larvas de *Tylodelphys* sp. encontrados en cada pez (logIntensidad) como variable predictora. Adicionalmente, tras hacer un análisis de correlación entre intensidad parasitaria y longitud estándar de los peces, se realizó un análisis DistLM utilizando el logaritmo de este último (logLongitud) como variable predictora, a modo de determinar la influencia de la talla de los peces (como indicador de su edad) sobre su composición isotópica. Ambos análisis de DistLM se realizaron tanto para el

conjunto de peces como para las especies de peces por separado, excluyendo los peces no parasitados por *Tylodelphys* sp., y utilizando un nivel de confianza de 95 % para determinar el nivel de significancia ($\alpha \leq 0.05$).

Para comparar la amplitud y posición de los nichos isotópicos de peces infectados y no infectados y según la categoría de intensidad de infección, el espacio del nicho isotópico fue modelado utilizando el paquete SIBER en R (Jackson et al. 2011). Este análisis permite obtener la posición y el tamaño del espacio de nicho como una región de probabilidad (inferencia bayesiana) en un espacio n-dimensional reducido a una proyección elíptica, a partir de los datos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del tejido muscular de los peces. A través de este paquete, se obtuvo las proyecciones elípticas de nicho de forma gráfica, elaboradas con un nivel de confianza de 95 % o 40 %, para los grupos conformados por 5 o más datos. Además, se obtuvo los valores correspondientes al área total de nicho (TA), que corresponde al área encasillada por los puntos más distantes en el espacio de $\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$, y el área estándar de la elipse (SEA), que es el área de la proyección elíptica graficada. Estos valores fueron posteriormente utilizados para determinar la magnitud de la diferencia entre la amplitud del nicho de peces infectados (PI) y de no infectados (PNI), mediante el cálculo de los índices TA_R y SEA_R , de la siguiente manera:

$$TA_R = \frac{TA_{PNI}}{TA_{PI}} \quad \text{y} \quad SEA_R = \frac{SEA_{PNI}}{SEA_{PI}}$$

Adicionalmente, se utilizó el paquete *tRophicPosition* en R, el cual incorpora un modelo bayesiano para hacer el cálculo de la posición trófica de un depredador en relación a una o dos líneas base, utilizando isótopos estables (Quezada-Romegialli et al. 2018). A partir de éste, se obtuvieron los valores correspondientes a la posición trófica basada en $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de los peces según especie y categoría de intensidad de infección por *Tylodelphys* sp., utilizando de referencia dos grupos de línea base: organismos de origen acuático y de origen terrestre.

Se realizaron una serie de análisis de varianza permutacional (PERMANOVA) para identificar diferencias entre los nichos isotópicos de los peces para evaluar el efecto de la presencia/ausencia de *Tylodelphys* sp. en el cráneo de cada pez (PNI, PI) y de la intensidad de las infecciones (Baja, Media, Alta, Muy Alta) sobre el nicho isotópico de *G. maculatus*, *B. microlepidotus* y *P. trucha* ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ combinado, matriz de distancia Euclidiana; Anderson 2001; McArdle & Anderson 2001). El nicho isotópico de cada especie fue evaluado tanto de forma independiente como comparada con las otras dos especies. El mismo análisis se realizó para determinar diferencias en la composición isotópica de las líneas base de cada río, entre categorías de organismos de línea base, y entre subgrupos de cada categoría (por ejemplo, entre fijadores y no fijadores dentro de la categoría de vegetales), además de determinar diferencias entre grupos de organismos según su origen (acuático o terrestre). Para esto, se determinó el nivel de significancia utilizando un nivel de confianza de 95 % ($\alpha \leq 0.05$).

5| RESULTADOS

5.1| Patrones de infección por *Tylodelphys* sp.

Se recolectaron 247 individuos de las 6 especies de peces que se han registrado hospedando a *Tylodelphys* sp. en Chile. Entre estas, *B. microlepidotus* y *G. maculatus* fueron las más abundantes, y solo *B. microlepidotus* estuvo presente en todos los ríos. Entre los 5 ríos muestreados, el mayor número de muestras de peces se obtuvo en el río Renaico, que fue también el único río en el que se encontraron todas las especies en estudio (Figura 2).

En total se contabilizaron 13939 larvas de *Tylodelphys* sp., lo cual equivale al 94,8 % del total de endoparásitos encontrados (Figura 2, Tablas A1-A3, en Anexo). Se obtuvo que en 5 de las 6 especies de peces que han sido registradas hospedando a *Tylodelphys* sp., estos parásitos son dominantes en el ensamble parasitario de cada especie de pez, representando más del 60 % de todos los parásitos contabilizados en cada una (Tabla 1). Del total de *Tylodelphys* sp. contabilizadas, el 40,9 % se encontraron infectando a *D. nahuelbutaensis*, especie de la cual se recolectaron sólo 3 individuos. En segundo lugar, *B. microlepidotus* portaba el 40,5 % de estos parásitos, pero en un total de 74 individuos.

En lo que sigue, la relación entre las infecciones por *Tylodelphys* sp. y el nicho isotópico de sus hospedadores, solo se considerarán 3 de las 6 especies de peces encontradas, siendo estas las especies *G. maculatus*, *B. microlepidotus* y *P. trucha*. No se incluye en los análisis siguientes a la lamprea *G. australis* dado que las infecciones no son comparables dado que las larvas de *Tylodelphys* sp. encontradas en el tracto digestivo y no dentro del cráneo. Además, las larvas metacercarias observadas infectando a esta especie presentan una morfología distinta a la de aquellas encontradas en los peces. En el caso de *D. nahuelbutaensis* no es considerado en los análisis posteriores dado que solo fue posible recolectar 3 individuos. Aún así, es destacable que fue la especie que presentó el mayor número de larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp. Por último, *Ch. galusdae* no será considerada dado que solo uno de los 36 individuos recolectados se encontraba infectado por *Tylodelphys* sp.

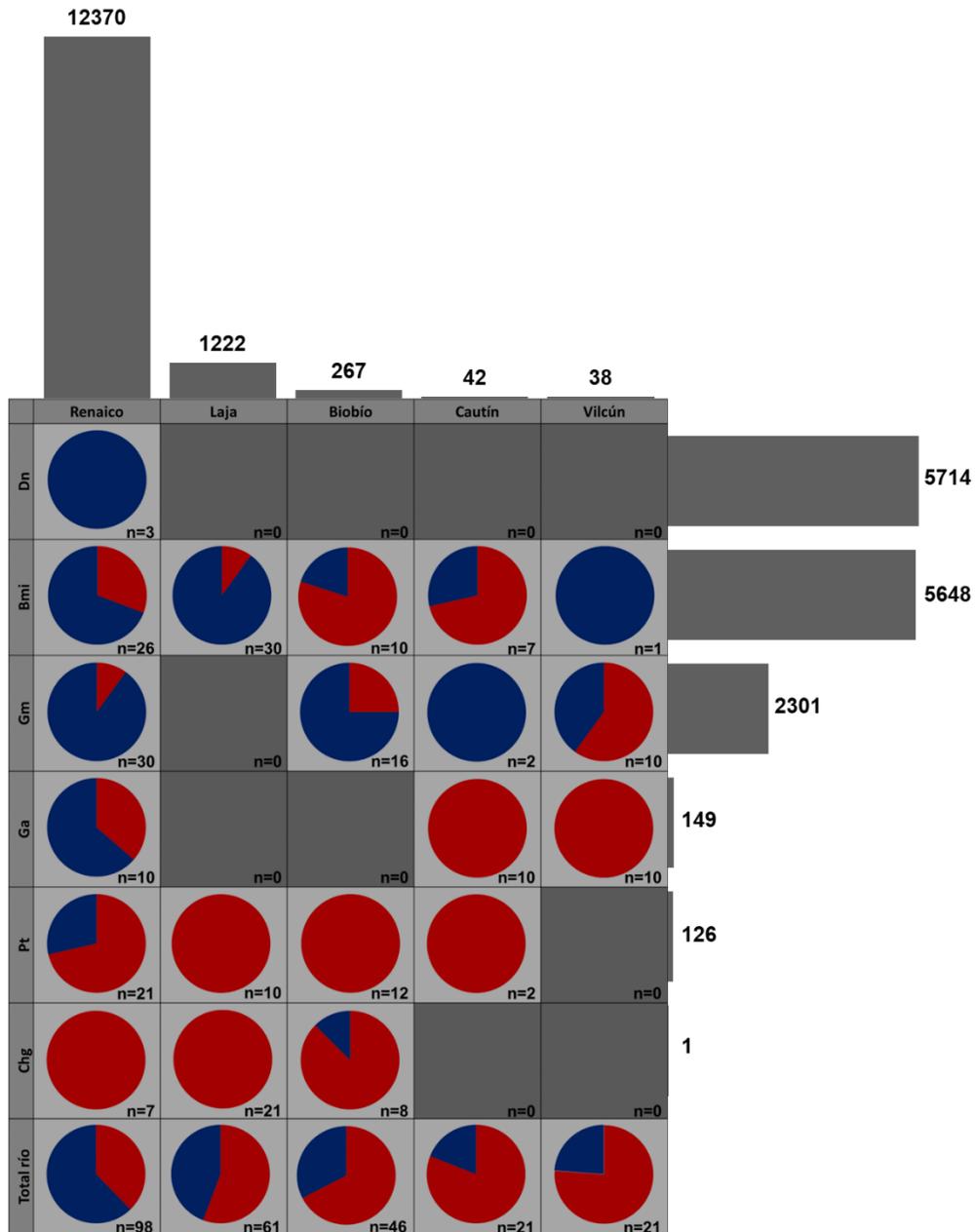


Figura 2. Proporción de individuos infectados (azul) y no infectados (rojo) de cada especie en cada río. Los gráficos de barra indican el número total de larvas metacercarias de *Tyloodelphys* sp. contabilizadas por especie de pez (barras horizontales) y por río (barras verticales). Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; Dn: *Diplomystes nahuelbutaensis*; Ga: *Geotria australis*; Chg: *Cheirodon galusdae*.

Tabla 1. Número de individuos por categoría de intensidad parasitaria por especie. PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; Dn: *Diplomystes nahuelbutaensis*; Ga: *Geotria australis*; Chg: *Cheirodon galusdae*.

	PNI	Baja	Media	Alta	Muy Alta	Total
Bmi	24	6	14	13	17	74
Gm	13	19	7	11	8	58
Pt	39	1	4	1	0	45
Dn	0	0	0	0	3	3
Ga	24	3	1	3	0	31
Chg	35	1	0	0	0	36
Total	135	30	26	28	28	247

Al evaluar solo las especies *G. maculatus*, *B. microlepidotus* y *P. trucha*, se observa que un total de 101 individuos, equivalentes a un 57 % de los peces de estas especies, se encontraban infectados por una o más larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp. Estos 101 individuos portaban un total de 8075 de estos parásitos, de los cuales 6507 provenían del río Renaico. *Galaxias maculatus* y *B. microlepidotus* presentaron altos valores de prevalencia parasitaria, y un número similar de peces infectados, pero, en total, se contabilizó más del doble del número de larvas de *Tylodelphys* sp. en individuos de esta última (Figura 2 y

Tabla A1, en Anexo), dado que *B. microlepidotus* está representado por un mayor número de individuos con una mayor intensidad parasitaria (ver Tabla 1). Las categorías de intensidad tienen un número similar de individuos, pero la categoría de muy alta intensidad parasitaria se encuentra representada en su mayoría por *B. microlepidotus*. Por su parte, *P. trucha* muestra valores de abundancia, intensidad y prevalencia mucho menores. Incluso, *Tylodelphys* sp. representa un menor porcentaje del total de parásitos portados por esta especie en comparación a las otras dos especies de peces (Tabla A3, en Anexo).

5.2| Similitud de señales isotópica de las líneas de base entre sitios de muestreo

En total, se recolectaron 170 muestras de organismos de línea base de los sitios en los que los peces fueron capturados. Al comparar la señal isotópica de las líneas base completas (macroinvertebrado, vegetal, seston y perifiton), entre los distintos ríos, se obtuvo que existen diferencias significativas (PERMANOVA; Pseudo-F=3.358; $p=0,0035$). Específicamente, las líneas base de los ríos Biobío y Vilcún difieren en su composición isotópica a las de los ríos Laja y Renaico (Tablas A4 & A5, en Anexo). Sin embargo, al evaluar por cada categoría de organismo de línea base se encontró que no existen diferencias significativas entre los productores primarios de los distintos ríos (tanto vegetales como perifiton; Tabla 6). En tanto, sí existen diferencias significativas en la composición

isotópica de las muestras de seston y macroinvertebrados provenientes de los distintos ríos (Tabla A7, en Anexo). Dado que los grupos de productores primarios terrestres y acuáticos no mostraron diferencias entre ríos, y que el aporte del seston a la composición isotópica de peces en sistemas dulceacuícolas no es significativo (Pingram et al. 2014), se consideró que la línea base isotópica relacionada con peces consumidores provenientes de los distintos ríos no es significativamente diferente. Por ello, en adelante los peces se analizan de manera conjunta, despejando el efecto del río de procedencia.

5.3| Diferencias en el nicho isotópico entre especies de pez

Se obtuvo que las señales isotópicas de las tres especies, *B. microlepidotus*, *G. maculatus* y *P. trucha*, difieren significativamente entre sí (PERMANOVA; Pseudo-F=3,471; p=0,0162). El análisis pareado revela que no existen diferencias significativas entre los nichos isotópicos de *B. microlepidotus* y *G. maculatus*, mientras que la diferencias entre los nichos de *P. trucha* y *B. microlepidotus* son marginalmente significativos (Tabla A8, en Anexo). Al crear las proyecciones elípticas correspondientes al área de probabilidad del nicho isotópico de cada especie (Figura 3), se visualiza que la elipse representativa del nicho de *B. microlepidotus* tiende a posicionarse hacia valores más empobrecidos en ^{15}N , en comparación con las elipses de las otras dos especies. Además, esta especie presenta la mayor amplitud de nicho de las tres especies,

lo cual, si bien no es visible en la Figura 3 dado la magnitud de la diferencia de los valores SEA, es observable en la Tabla 2, como un valor TA que equivale a más del doble del TA de *G. maculatus* y *P. trucha*. Por su parte, la diferencia entre las elipses de *G. maculatus* y *P. trucha* se observa en el eje de $\delta^{13}\text{C}$, tendiendo la segunda especie hacia valores más empobrecidos en carbono pesado, en relación a la primera (Figura 3).

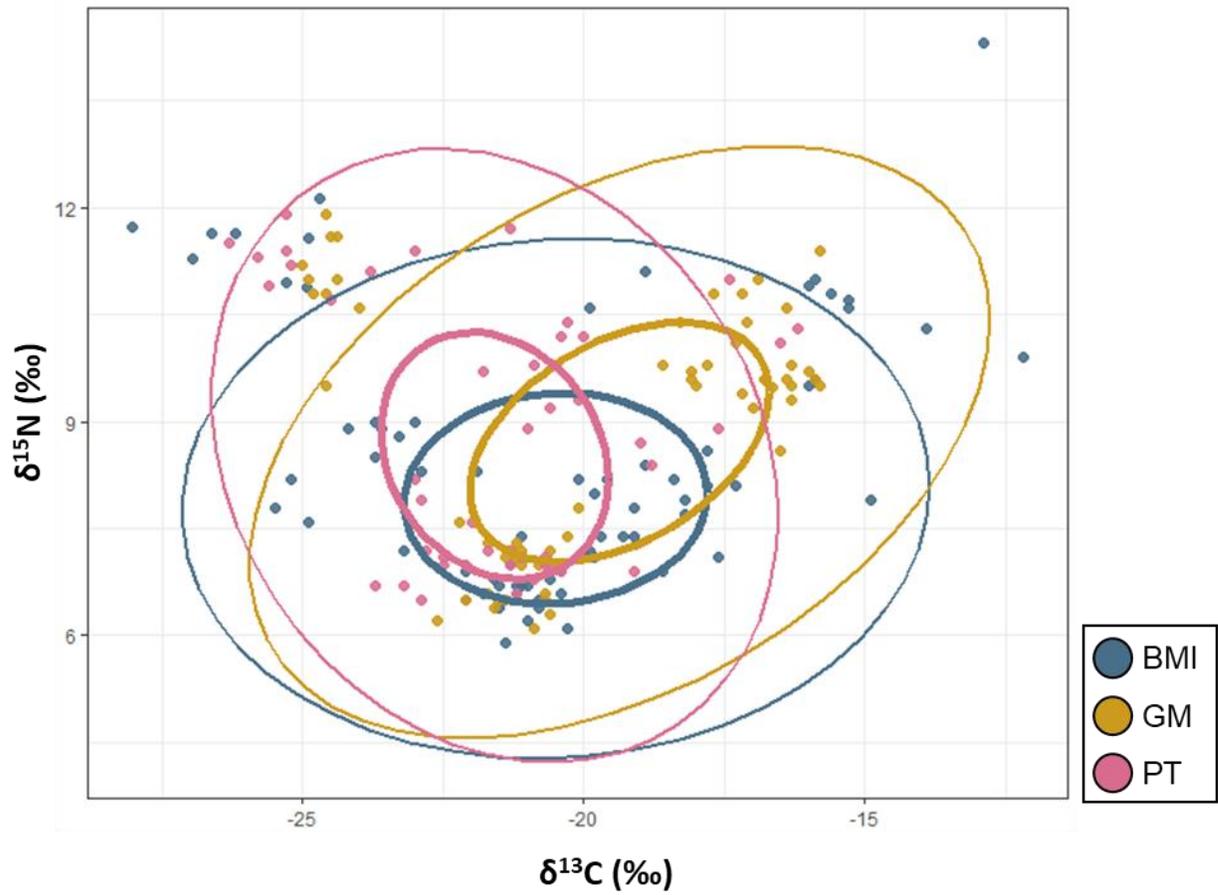


Figura 3. Proyecciones elípticas del nicho isotópico de *Basilichthys microlepidotus* (Bmi), *Galaxias maculatus* (Gm) y *Percichthys trucha* (Pt) en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$). Las líneas delgadas corresponden a elipses elaboradas con un intervalo de confianza del 0,95, mientras que las líneas gruesas indican un intervalo de confianza de 0,4.

5.4| Variaciones en el nicho isotópico de peces asociadas a infecciones por *Tylodelphys* sp.

Los peces infectados por *Tylodelphys* sp. difieren significativamente en su composición isotópica de los peces no infectados por este parásito (PERMANOVA; Pseudo-F=3,471; p=0,0162). Esto se observa en la Figura 4 como una tendencia hacia valores más enriquecidos en nitrógeno pesado por parte de la proyección elíptica del nicho de los peces no infectados, en relación a los infectados. Junto con esto, la elipse de este último grupo tiene una menor amplitud en comparación a la de los no parasitados. Al comparar el área de las proyecciones elípticas correspondientes a los nichos isotópicos de peces infectados y no infectados por cada especie, se observa que esto se cumple tanto para *B. microlepidotus* como *P. trucha*. Sin embargo, ocurre lo contrario para los peces de la especie *G. maculatus*, de manera que los parasitados por *Tylodelphys* sp. tienen un nicho más amplio que el de los no parasitados, tanto al considerar su área total como el área estándar de su elipse (Tabla 2). Se obtuvo, además, que la magnitud de la diferencia en amplitud de nicho de los peces infectados y no infectados varía entre especies, siendo *P. trucha* la que presenta la mayor diferencia entre éstas (Tabla 3).

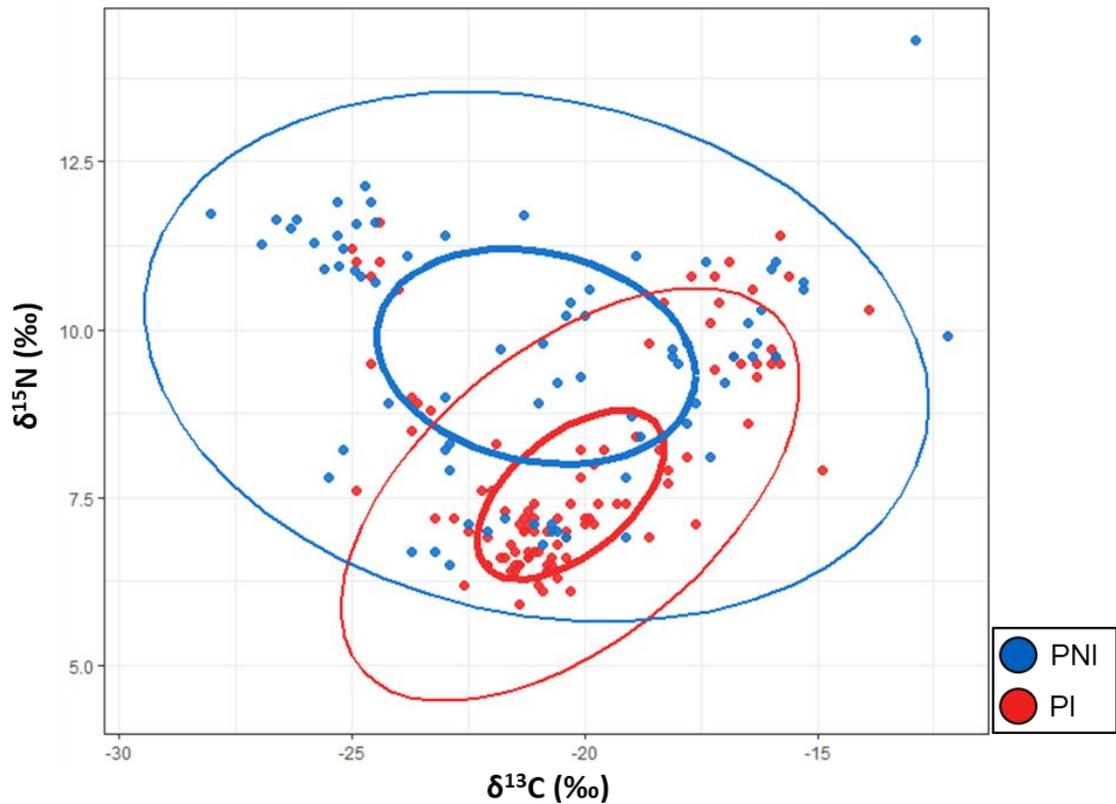


Figura 4. Proyecciones elípticas del nicho isotópico de peces infectados por *Tyloodelphys* sp. (PI, en azul) y no infectados (PNI, en rojo) en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$). Las líneas delgadas corresponden a elipses elaboradas con un intervalo de confianza del 0,95, mientras que las líneas gruesas indican un intervalo de confianza de 0,4.

Tabla 2. Área total (TA) y área elíptica estándar (SEA) de las proyecciones elípticas de los nichos isotópicos de *Basilichthys microlepidotus* (Bmi), *Galaxias maculatus* (Gm) y *Percichthys trucha* (Pt), según presencia o ausencia de infección parasitaria por *Tylodelphys* sp. PI, peces infectados por *Tylodelphys* sp.; PNI, peces no infectados.

	TA			SEA		
	Bmi	Gm	Pt	Bmi	Gm	Pt
Total	84,17	38,17	36,76	19,50	16,53	13,43
PNI	70,55	7,87	36,61	25,39	3,74	14,22
PI	30,96	36,77	0,82	6,99	15,99	0,66

Tabla 3. Índices TA_R y SEA_R calculados para las especies *Basilichthys microlepidotus* (Bmi), *Galaxias maculatus* (Gm) y *Percichthys trucha* (Pt).

	TA_R ($TA_{PNI} : TA_{PI}$)	SEA_R ($SEA_{PNI} : SEA_{PI}$)
Bmi	2,28	3,63
Gm	0,21	0,23
Pt	44,65	21,55

5.5| Asociación entre intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. y nicho isotópico de su hospedador

El análisis DistLM señala que un 22% de la variabilidad de la composición isotópica de los peces infectados es explicada por la intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. ($R^2=0,21$; $p=0,0001$). Los análisis DistLM realizados para las especies *B. microlepidotus* y *G. maculatus* por separado (*P. trucha* no fue evaluada debido al bajo número de peces infectados), muestran resultados muy similares a este patrón global (Tabla A10, en Anexo). Por su parte, se obtuvo que no hay correlación entre la intensidad parasitaria y la talla de los peces ($p=0,667$ $r^2=0,002$), y los resultados del DistLM señalan que no hay una relación significativa entre la longitud de los peces y su nicho isotópico (Tabla A9, en Anexo).

Se obtuvo que existen diferencias isotópicas significativas entre categorías de intensidad parasitaria (PERMANOVA; Pseudo-F=6,234; $p=0,0001$). Al realizar un análisis pareado entre categorías de intensidad, se obtuvo que los peces no infectados por *Tylodelphys* sp. y los peces pertenecientes a las categorías de baja intensidad parasitaria no muestran diferencias significativas entre sus composiciones isotópicas (Tabla 4). Lo mismo ocurre entre los peces de las categorías de intensidad baja y media, y entre los de las categorías de media y alta intensidad parasitaria. Por su parte, el nicho isotópico del grupo de peces con muy alta intensidad parasitaria difiere significativamente de todas las otras categorías, incluyendo el grupo con alta intensidad parasitaria (Figura 5). Al

respecto, destaca que las categorías de menor intensidad de infección están representadas por elipses más amplias, y que la proyección elíptica correspondiente a la categoría de intensidad muy alta es de un tamaño mucho menor a las de otras categorías, lo cual es corroborado por los valores de las áreas de estas elipses (SEA; Tabla 5). Adicionalmente, se obtuvo que no hay una interacción significativa entre el factor intensidad parasitaria y especie (PERMANOVA; Pseudo-F=0,5659; p=0,7761). Es decir, la variación en el nicho isotópico de un pez, asociada a un distinto número de larvas de *Tylodelphys* sp. en su cráneo, es similar para *B. microlepidotus*, *G. maculatus* y *P. trucha*. En la Figura 6 se visualizan las similitudes entre especies en cuanto al patrón de posición y amplitud de nicho isotópico asociadas a distintas intensidades parasitarias.

Tabla 4. Resultados de PERMANOVA pareado (valores p) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de categorías de intensidad de infecciones por *Tyloodelphys* sp. PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tyloodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más. Los valores en negrita indican una diferencia significativa entre categorías.

	PNI	Baja	Media	Alta
Muy Alta	0,0003	0,0002	0,0005	0,0005
Alta	0,0028	0,0272	0,688	
Media	0,0175	0,1029		
Baja	0,1208			

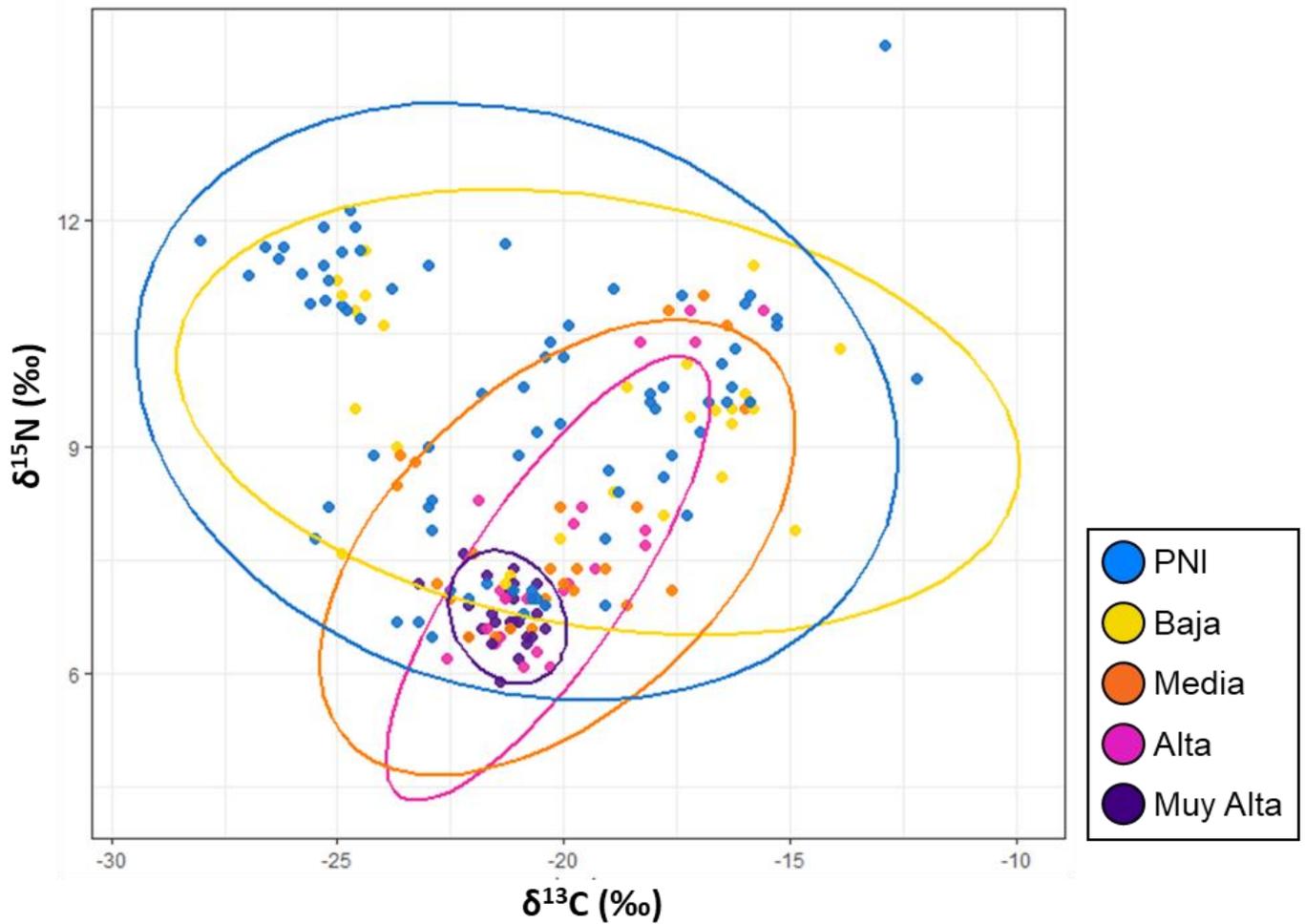


Figura 5. Proyecciones elípticas elaboradas con un intervalo de confianza del 0,95 del nicho isotópico conjunto de peces hospederos de *Tyloodelphys* sp clasificados según grupos de intensidad parasitaria. en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$). PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tyloodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más.

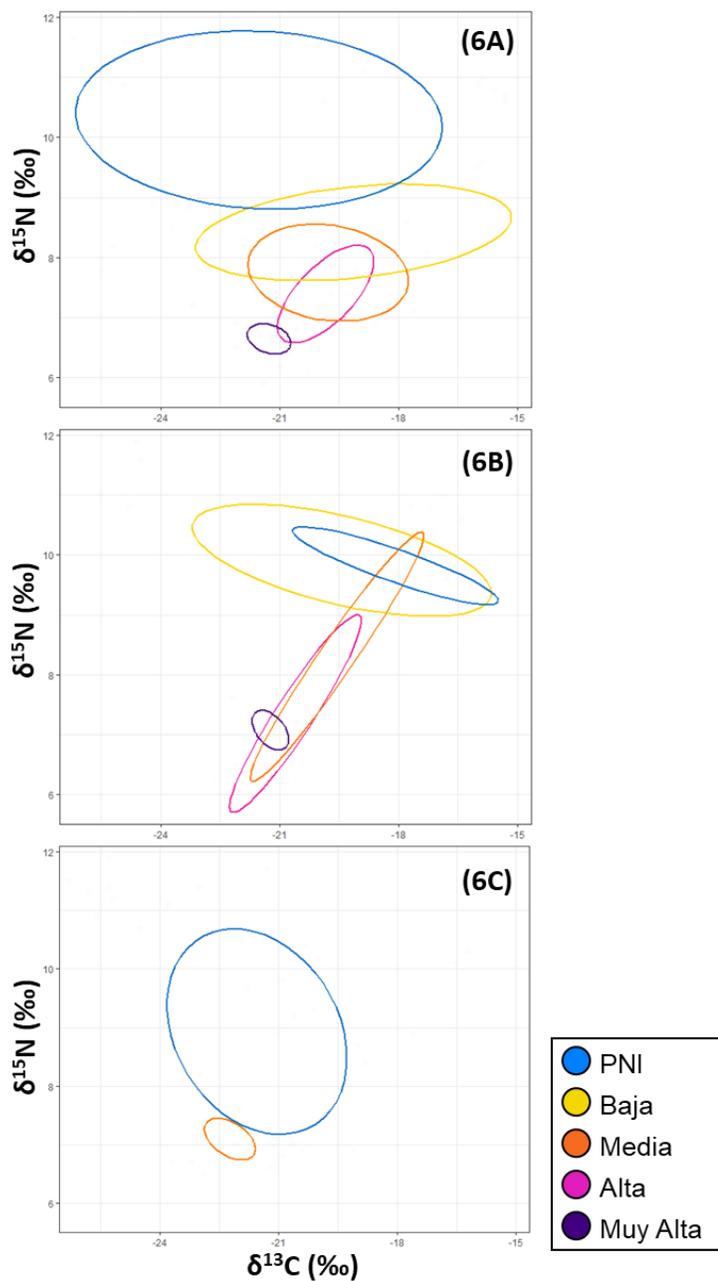


Figura 6. Proyecciones elípticas del nicho isotópico en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$) de peces de 3 especies clasificados según la intensidad de sus infecciones por el parásito *Tylodelphys* sp., elaboradas con un intervalo de confianza del 0,40. 6A) *Basilichthys microlepidotus* (Bmi); 6B) *Galaxias maculatus* (Gm); 6C) *Percichthys trucha* (Pt). PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más.

5.5.1. | Intensidad parasitaria y amplitud de nicho isotópico ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$)

Los nichos isotópicos correspondientes a categorías de mayor intensidad parasitaria tienen menor amplitud, de manera que se observa una disminución progresiva del área total y el área estándar de la elipse desde el grupo de los peces no infectados hasta los de muy alta intensidad (Tabla 5).

Si bien no fue posible calcular las áreas de las categorías de intensidad para cada especie por separado, es posible apreciar que el patrón global se mantiene para cada una, al comparar el tamaño de las elipses de las distintas categorías (ver Figura 6). Sin embargo, existe una excepción a este patrón entre dos categorías de intensidad parasitaria de *G. maculatus*. En esta especie no ocurre la disminución progresiva de la amplitud de nicho con el aumento de la intensidad parasitaria, sino que, inicialmente, existe un aumento del área entre la elipse del grupo no infectado y la del grupo de baja intensidad parasitaria, y luego disminuye al aumentar la intensidad parasitaria (ver Figura 6).

Tabla 5. Área de las proyecciones elípticas del nicho isotópico en un espacio bidimensional ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$) de los peces hospederos de *Tylodelphys* sp. (*Basilichthys microlepidotus*, *Galaxias maculatus* y *Percichthys trucha*), según categoría de intensidad de infección parasitaria. PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más. TA, Área total; SEA, Área estándar de la elipse.

	PNI	Baja	Media	Alta	Muy Alta
TA	78,93	41,36	21,79	15,02	2,64
SEA	19,87	15,18	8,96	4,50	0,75

5.5.2| Intensidad parasitaria y posición de nicho isotópico ($\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$)

Las proyecciones elípticas graficadas señalan que los grupos de peces con mayor intensidad parasitaria tienden hacia los valores empobrecidos en nitrógeno pesado (Figura 7). La disminución de la posición trófica basada en $\delta^{15}\text{N}$ ‰ asociada al aumento de la intensidad parasitaria se visualiza con mayor claridad en la Figura 8. En esta se observa que las tres especies por separado siguen el mismo patrón general. Además, se observa que, a pesar de que existen diferencias en la posición trófica de los peces no infectados entre especies, las tres especies convergen hacia una misma posición trófica en categorías de más alta intensidad de parasitismo. Es de notar que, al evaluar todos los peces en conjunto, la composición isotópica de los peces con baja intensidad parasitaria es más enriquecida en nitrógeno pesado que la de los peces no infectados.

La posición del nicho isotópico de los peces no difiere en mayor medida en el eje del carbono entre categorías de intensidad, pero sí existe una tendencia hacia valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -22 ‰ y -20 ‰ al aumentar la intensidad parasitaria, apreciable como una disminución de la desviación estándar (SD) de los datos al aumentar la intensidad parasitaria (Figura 7).

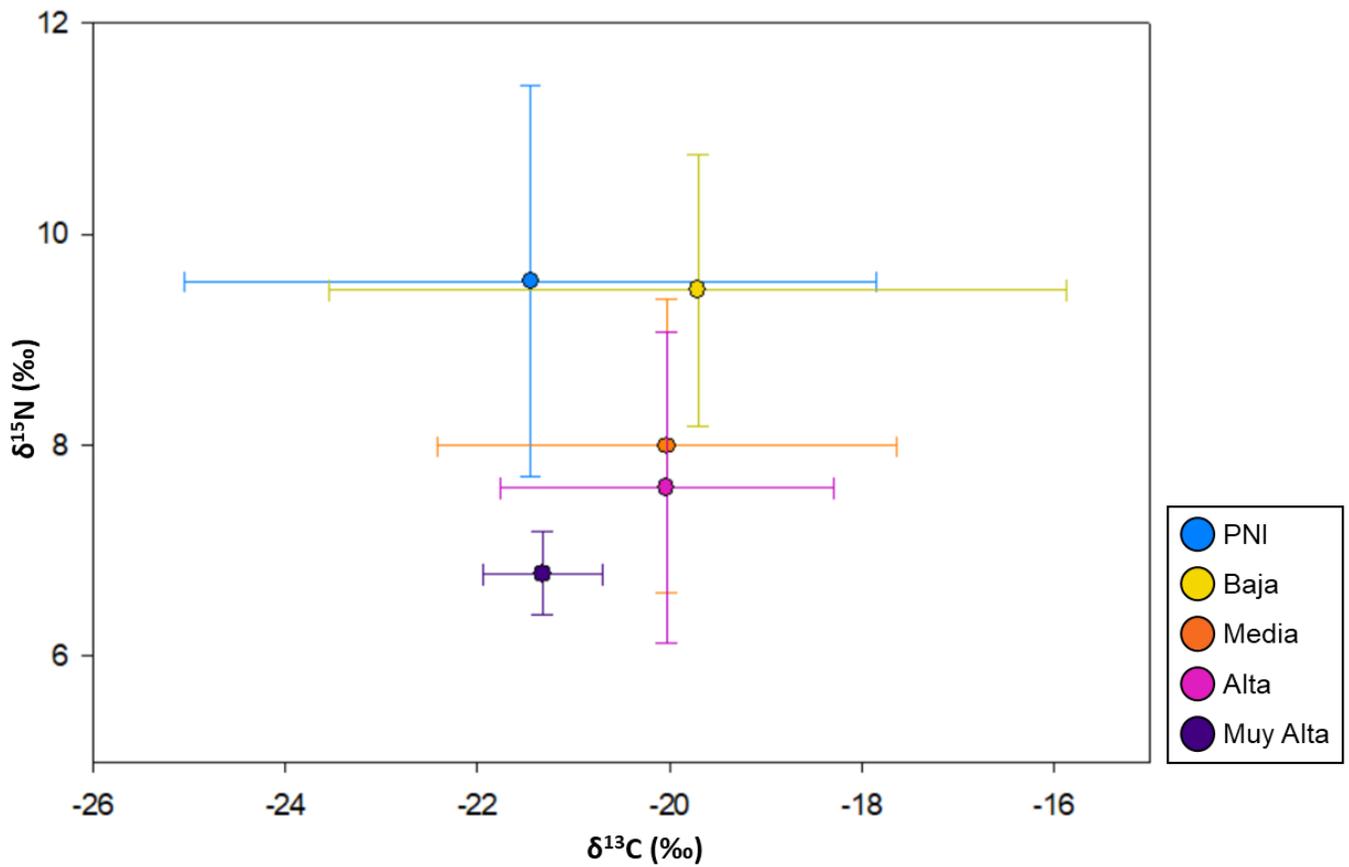


Figura 7. Promedio \pm SD de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de los peces hospedadores de *Tyloodelphys* sp. según categorías de intensidad de infección. PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tyloodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más.

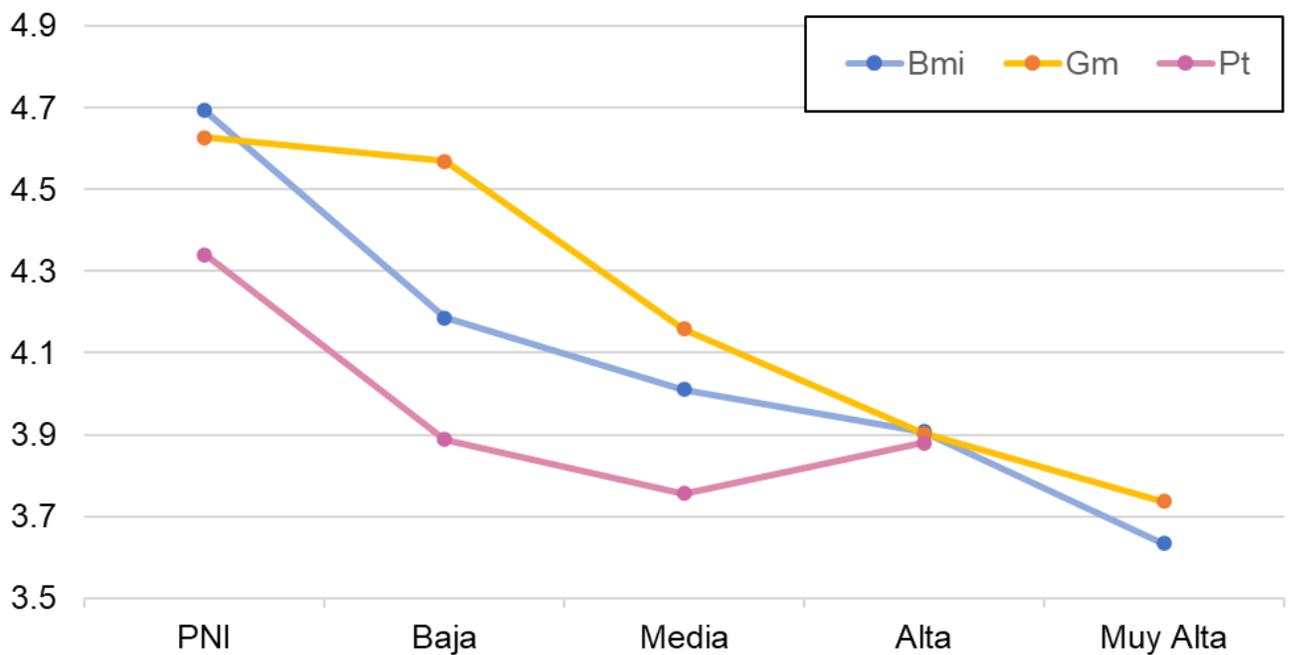


Figura 8. Posición trófica promedio basada en $\delta^{15}\text{N}\text{‰}$ de cada categoría de intensidad parasitaria por especie de pez. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más.

5.6| Fuentes de carbono (línea de base)

Al comparar las señales isotópicas de las cuatro categorías de organismos de línea base (macroinvertebrados, seston, perifiton y vegetales) resultó que difieren significativamente entre ellas (PERMANOVA; Pseudo-F=22.55; $p=0,0001$). Luego, al comparar la señal isotópica de los subgrupos dentro de cada categoría de organismos de línea base, se obtuvo que solo existen diferencias significativas

dentro del grupo de muestras vegetales (árboles y otras plantas; fijadoras y no fijadoras de nitrógeno) (ver Tabla A7, en Anexo). Estos resultados permiten continuar los análisis de la línea base isotópica considerando solo las cuatro categorías originales y no sus subgrupos.

Al evaluar según el origen de los organismos de línea base, se obtuvo que existen diferencias significativas entre las señales isotópicas de organismos de línea base de origen terrestre y las de origen acuático (PERMANOVA; Pseudo-F=23.61; $p=0,0001$). El primer grupo es distintivo por valores más empobrecidos, tanto en nitrógeno como carbono pesado, en comparación al segundo, teniendo una señal promedio de $\delta^{15}\text{N}$ negativa (Figura 9). Incluso, los organismos de origen acuático poseen valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ que superan en promedio a los de los organismos de origen terrestre en aproximadamente 3. ‰ (Figura 10). Esto es corroborado en la Figura 9 en la posición del perifiton, principal productor primario de origen acuático, en relación al grupo de organismos vegetales, que representan la productividad primaria terrestre.

Al situar el nicho isotópico de los peces en relación a las categorías de organismos de línea base, se observa que todos los peces se posicionan hacia valores más enriquecidos en carbono pesado, siendo su promedio más de 3 ‰ mayor al de los organismos de origen acuático. El promedio de $\delta^{15}\text{N}$ de los peces es casi 5 ‰ mayor al de éstos. Al evaluar por categoría de intensidad parasitaria, el grupo de muy alta intensidad, que es el de menor posición trófica, tiene un

promedio de $\delta^{15}\text{N}$ mayor en aproximadamente 3 ‰, pero una importante parte de los peces de este grupo se superponen a organismos de línea base. Notablemente, varios macroinvertebrados se encuentran en una posición trófica similar, e incluso mayor, a la de algunos peces con muy alta intensidad parasitaria (Figuras 1A-3A, en Anexo).

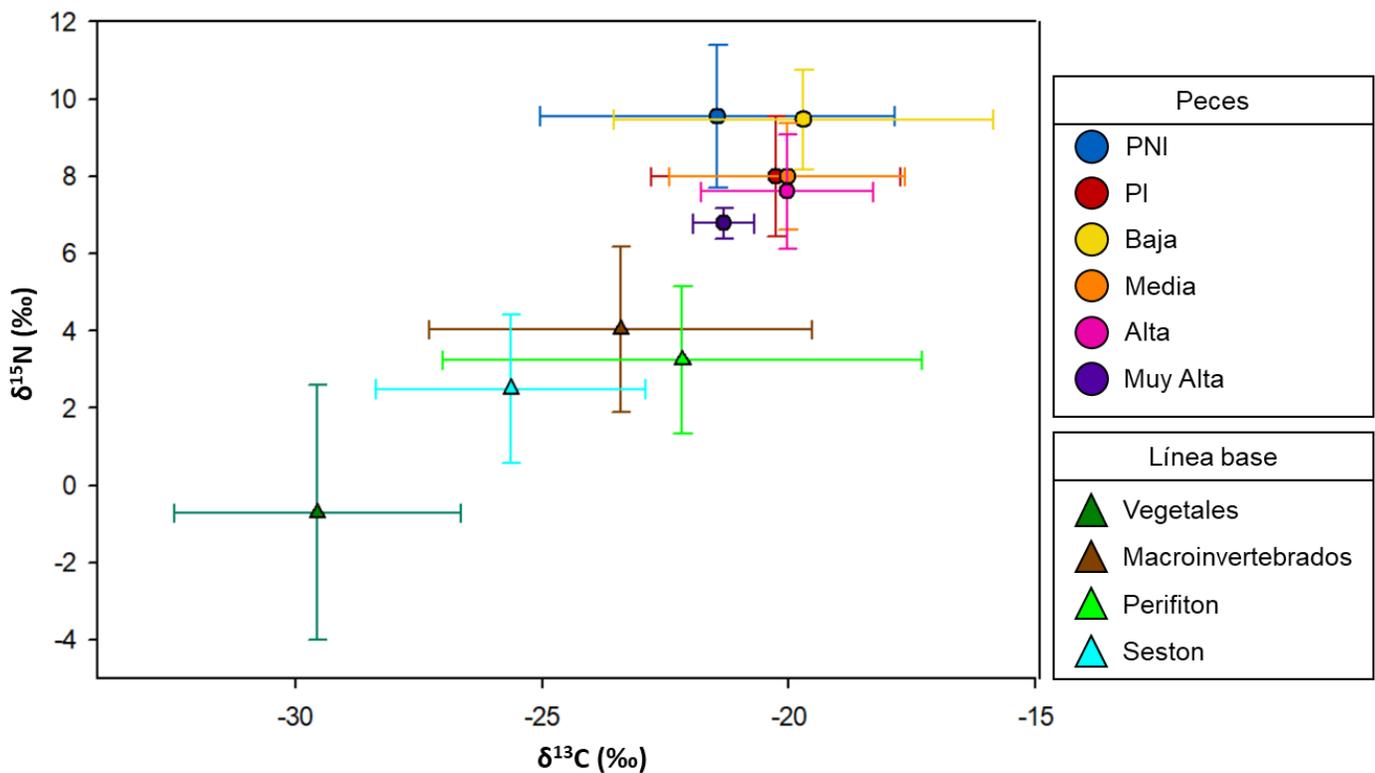


Figura 9. Promedio \pm SD de los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de peces categorizados según la intensidad parasitaria y categorías de organismos de línea base. PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más.

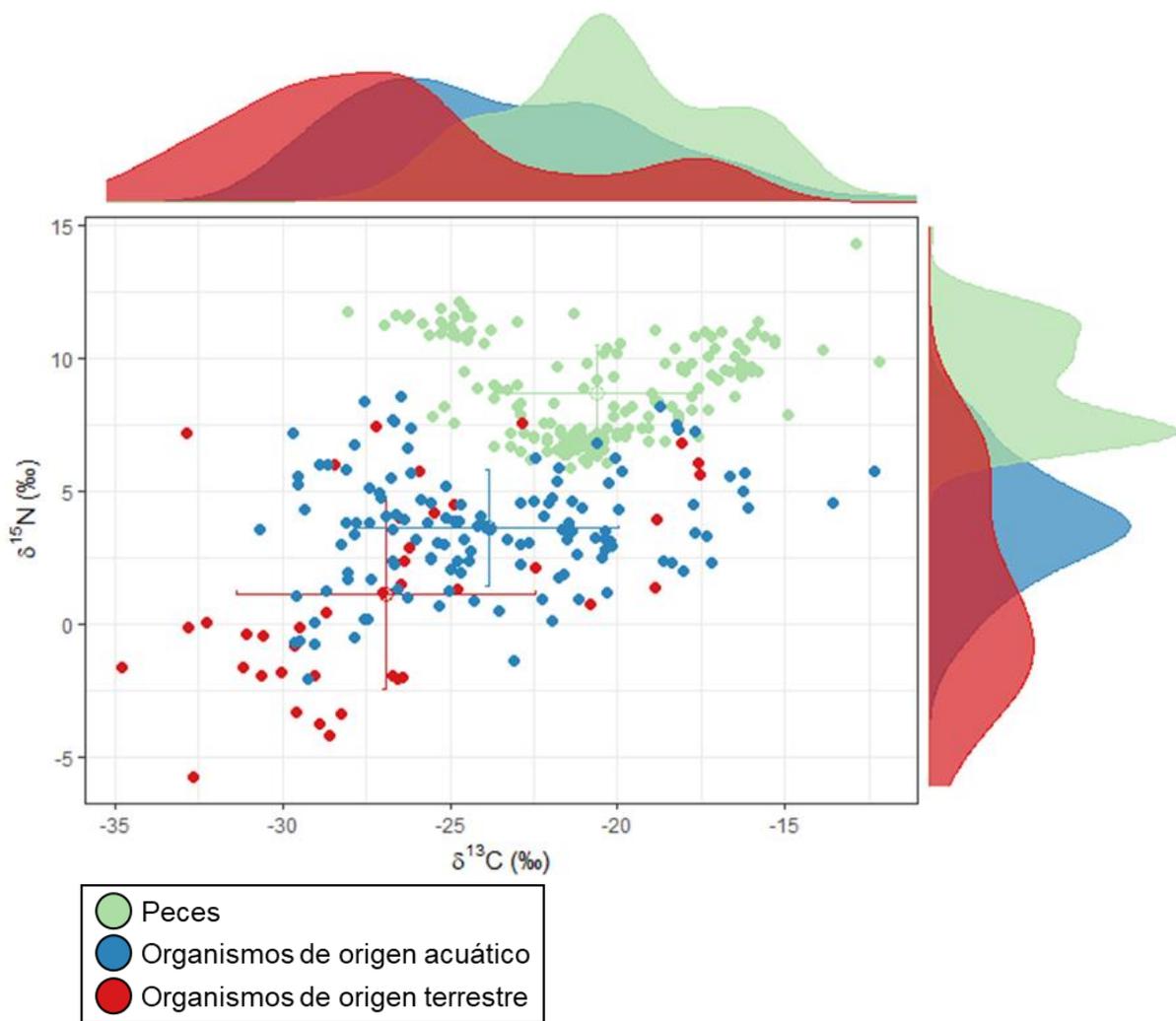


Figura 10. Promedio \pm SD de los valores $\delta^{13}\text{C}$ vs $\delta^{15}\text{N}$ (‰) de los organismos de línea base categorizados según su origen (acuático/terrestre) y de los peces recolectados (esto incluye *Basilichthys microlepidotus*, *Galaxias maculatus* y *Percichthys trucha*). Arriba y a la derecha: distribución de densidad de los datos correspondientes a organismos de línea base.

6| DISCUSIÓN

En el presente estudio se ha evidenciado que la intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. está asociada a la variación en el nicho isotópico de sus hospedadores. *Basilichthys microlepidotus*, *Galaxias maculatus* y *Percichthys trucha* cumplen un mismo patrón de respuesta al aumento de la intensidad parasitaria, disminuyendo la amplitud de sus nichos y sus posiciones tróficas, independientemente de las diferencias ecológicas que existan entre ellas.

6.1| *Basilichthys microlepidotus* y *Galaxias maculatus* son las principales especies hospedadoras de *Tylodelphys* sp.

Al observar los patrones de prevalencia, intensidad y abundancia parasitaria de las especies de peces muestreadas, es posible señalar que las especies *Basilichthys microlepidotus* y *Galaxias maculatus* son los principales hospedadores de *Tylodelphys* sp. Además de poseer las mayores abundancias, prevalencias e intensidades de infecciones por *Tylodelphys* sp., estas son las especies de peces en las cuales *Tylodelphys* sp. presenta la mayor proporción de la abundancia total de parásitos (mayor a 90 %), y son las que se encontraron infectadas en todos los ríos en los que fueron capturadas. La dominancia de *Tylodelphys* sp. en el ensamble parasitario de peces es un patrón recurrente en

los estudios de digeneos en los que este género está presente (Kennedy 1981). Incluso, se ha reportado que el aumento de la abundancia de *Tylodelphys* sp. está ligada a la disminución de la abundancia de otros tipos de parásitos (Viozzi & Flores 2002; Kennedy 1981).

La única especie que superó estas especies en los indicadores de infecciones por *Tylodelphys* sp. fue *D. nahuelbutaensis*. Esta especie de pez representa un especial desafío para el estudio de la historia de vida de *Tylodelphys* sp. dado su estado de conservación 'En Peligro', y la inexistencia de métodos no letales para la observación de *Tylodelphys* sp. Aun así, con los resultados de este estudio es posible señalar que *D. nahuelbutaensis* es posiblemente una de las principales especies hospedadoras de estos parásitos, y no solamente un hospedador incidental de *Tylodelphys* sp.. *Diplomystes nahuelbutaensis* presentó infecciones más de 10 veces más intensas que las otras especies en cada uno de los individuos capturados, y no presentó infecciones por parte de otros parásitos. En contraste, solo se identificó una única larva metacercaria de *Tylodelphys* sp. en *Ch. galusdae* (prevalencia parasitaria de 2,8 %), lo cual representa 4,2 % de la abundancia total de parásitos encontrados en esta especie. Al contrario de *D. nahuelbutaensis*, es posible que *Ch. galusdae* sea un hospedador accidental. Aun así, no es posible descartar que esta especie no cumple un rol más importante hospedando a *Tylodelphys* sp. en otros ríos.

Por su parte, *P. trucha* y *G. australis*, a pesar de poseer abundancias relativamente altas de *Tylodelphys* sp., solo se encontraron infectadas en el río Renaico, que es el único río donde se recolectaron todas las especies de peces estudiadas, y el origen del mayor número de *Tylodelphys* sp. (88,7 %). Considerando lo anterior, sumado a que todas las especies (exceptuando *Ch. galusdae*) poseen la mayor abundancia e intensidad parasitaria en el río Renaico, es posible sugerir que existe una relación entre la abundancia total de *Tylodelphys* sp. en un ecosistema y la diversidad de hospedadores a la que recurre este parásito. *Basilichthys microlepidotus* y *G. maculatus* serían las especies que inicialmente acumularían las infecciones más intensas, y, a medida que aumenta la abundancia del parásito en un río, las infecciones comenzarían a ser más prevalentes e intensas en otras especies de peces.

6.2| Caracteres ecológicos de los peces y su asociación a infecciones por *Tylodelphys* sp.

Los caracteres ecológicos de los peces están estrechamente ligados a qué tipos y qué magnitud de infecciones parasitarias presentan (Grobbelaar et al. 2014). Por su parte, las intensidades de las infecciones por *Tylodelphys* sp. en una especie de pez dependen, por lo menos en parte, de la probabilidad de que la larva cercaria de vida libre se encuentre con un pez. Dado la naturaleza activa del proceso de infección, una mayor intensidad parasitaria está ligada a que el

pez se exponga repetidamente o por largos periodos de tiempo al ambiente en el que se encuentra la larva cercaria. Éstas emergen de su primer hospedador intermediario, en el caso de *Tylodelphys* sp., probablemente un caracol dulceacuícola del género *Chilina*, y solo nadan activamente una vez detectados los estímulos indicadores de un potencial hospedador, como turbulencias en el agua, sombras y señales térmicas (Grobbelaar et al. 2014; Chappel 1995). Es por esto que las zonas donde habita una mayor densidad de caracoles acuáticos (ej. zonas ribereñas, sitios con piedras y macrófitas para refugiarse, sitios con alta productividad primaria) son zonas con mayor densidad de larvas cercarias en el agua (Grobbelaar et al. 2014; Revenga & Scheinert 1999b; Chappel 1995). El que *B. microlepidotus* y *G. maculatus* sean las principales especies hospedadoras de *Tylodelphys* sp. puede, por lo tanto, ser relacionado con su uso de hábitat y hábitos alimentarios.

Los juveniles de *B. microlepidotus* viven en zonas ribereñas con vegetación sumergida, o en zonas intermedias con abundantes macrófitas (Quezada-Romegialli et al. 2010; Vila et al. 1981). Además, esta es la única especie omnívora de las consideradas en este estudio, incorporando algas filamentosas como una parte importante de su dieta (Vega-Retter et al. 2020; Venegas & Espinoza 2018). Lo anterior implica que estos peces pasan más tiempo en áreas someras y con mayor densidad de vegetación, los cuales presentan un hábitat adecuado para caracoles acuáticos. Por otro lado, *G. maculatus* puede ser encontrada en zonas ribereñas durante toda su vida, pero con mayor frecuencia

durante su estado juvenil, utilizando este tipo de ambiente como refugio contra potenciales depredadores (Cussac et al. 2020; Milano et al. 2013). Ésta posee una dieta de tipo generalista que varía según diversas variables, pero se ha registrado que se basa principalmente en presas litorales, no pelágicas (Manosalva et al. 2021; Milano et al. 2013; Vega et al. 2013).

Si bien *B. microlepidotus* y *G. maculatus* coinciden en el uso de hábitat favorecedor para la presencia de caracoles, es de notar que *D. nahuelbutaensis*, que es posiblemente una de las principales especies hospedadoras de *Tylodelphys* sp., es ecológicamente muy distinta a las dos anteriores. *Diplomystes nahuelbutaensis* se considera bentónico-hiporréico, y se alimenta de invertebrados bentónicos, usualmente en zonas más bien profundas y corrientosas (Habit et al. 2005; Habit et al. 2009). Por ello, en su caso, el número de *Tylodelphys* sp. que portan no se asociaría directamente al uso de la zona ripariana. Grobbelaar et al. (2014) han señalado que las especies de peces bentónicas estarían más expuestas a las “nubes” de larvas cercarias emergentes dado su naturaleza pasiva, lo cual podría explicar las altas intensidades parasitarias de *D. nahuelbutaensis*. Sin embargo, las fases larvales de la lamprea *G. australis*, que también habitan la zona bentónica-hiporréica presentan una baja prevalencia de infecciones por *Tylodelphys* sp., al igual que intensidades relativamente bajas (Neira 1984). Además, especies como estas, que viven asociados al sedimento, y frecuentan ambientes corrientosos y relativamente profundos, no son una opción ventajosa de hospedador para *Tylodelphys* sp. si

se considera que el éxito del parásito está dado por la probabilidad de que el pez hospedador sea depredado (Grobbelaar et al. 2014). La mayoría de las aves que se han descrito hospedando a parásitos del género *Tylodelphys* pertenecen al grupo de los Podicipediformes, las cuales, si bien se zambullen para capturar peces, tienden a forrajear en aguas tranquilas (Stumbo & Poulin, 2016; Paszkowski & Tonn 2000). En definitiva, las características ecológicas de *D. nahuelbutaensis* no explican las muy altas intensidades parasitarias de estos peces.

Otros motivos por los cuales *B. microlepidotus* y *G. maculatus* (y, posiblemente, *D. nahuelbutaensis*) son las principales especies hospedadoras podrían incluir, por ejemplo, una preferencia por parte de las larvas cercarias a infectar estas especies, de manera que responden a un estímulo específico generado por estos peces. Alternativamente, la ausencia de caracteres morfológicos y fisiológicos que dificulten las infecciones en estas especies, como escamas duras o hiperreactividad inmunológica podrían sumar las probabilidades de que las larvas cercarias completen la infección, o a la tendencia de los peces a agruparse en cardúmenes (exceptuando, en este caso, a *D. nahuelbutaensis*; Chappel 1995).

El nicho isotópico de *B. microlepidotus* muestra diferencias a los nichos de *G. maculatus* y *P. trucha* (aunque la diferencia con esta última es solo marginalmente significativa; Tabla A8, en Anexo). Estas diferencias pueden ser relacionadas al principal carácter que distingue a esta especie de las otras dos,

que es su calidad de omnívoro. Por un lado, la posición trófica de *B. microlepidotus* es la menor de las tres, lo que se condice con el hecho de que este pez es el único entre los tres que incorpora algas como parte importante de su dieta (Vega-Retter et al. 2019; Venegas & Espinoza 2018; Vila et al. 1981). Por otro lado, la mayor amplitud de su nicho coincide con los hábitos omnívoros y potencial consumo de presas de múltiples orígenes y niveles tróficos distintos (Venegas & Espinoza 2018).

6.3| Infecciones por *Tylodelphys* sp. están asociadas a la reducción de la posición trófica y la amplitud de nicho isotópico.

La composición isotópica de los peces hospedadores está cercanamente asociada a las intensidades de las infecciones por *Tylodelphys* sp.. La respuesta de los nichos isotópicos de los peces a las infecciones por *Tylodelphys* sp. es consistente entre especies, cumpliendo con el patrón global: al aumentar la intensidad parasitaria, disminuye tanto la amplitud del nicho isotópico como la posición trófica de los peces. Este patrón señala, por un lado, que los peces infectados por un mayor número de larvas de *Tylodelphys* sp. recurren a una menor diversidad de fuentes alimenticias, contrario a lo que se había postulado al inicio de este estudio. Por otro lado, el patrón indica que los peces con infecciones más intensas pertenecen a niveles tróficos más bajos, incluso menores a los de algunos macroinvertebrados recolectados. Adicionalmente, se

observa que la posición trófica de las distintas especies de peces convergen a medida que aumenta la intensidad parasitaria.

La modificación del nicho de un hospedador parasitado puede presentarse de distintas formas, y confirmar que estas modificaciones son causadas por una infección parasitaria no siempre es posible. Sin embargo, existe evidencia para señalar que la modificación del nicho está mediada por cambios conductuales inducidos por *Tylodelphys* sp. El género *Tylodelphys* está conformado por parásitos cuyos efectos sobre la conducta de su hospedador intermedio han sido registrados para múltiples hospedadores distintos (López-Rodríguez et al. 2021; Chappel 1995). López-Rodríguez et al. (2021) describieron que peces de la especie *G. maculatus* infectados por *Tylodelphys* sp. mostraron patrones de nado y capacidad de respuesta distinta a aquellos no infectados. Es probable que el menor grado de respuesta a estímulos externos y la alteración de las capacidades motoras observadas en *G. maculatus* infectados en este estudio esté presente también en los individuos infectados de *B. microlepidotus* y *P. trucha*, teniendo consecuencias sobre el proceso de forrajeo. Barber et al. (2000) describieron un modelo en torno a cómo los parásitos pueden, a través de la manipulación de su hospedador, tener consecuencias sobre las distintas fases del proceso de forrajeo en peces, y por ende, sobre la composición de su dieta. En este caso, *Tylodelphys* sp., mediante las alteraciones conductuales descritas por López-Rodríguez et al. (2021), estaría afectando específicamente los procesos de detección, selección y captura de presas de sus hospedadores

(Barber et al. 2000). De ser así, la diferencia en la explotación de fuentes de carbono entre peces pertenecientes a distintas categorías de intensidad de infección por *Tyloodelphys* sp. provendría de la ineficiencia de los peces más infectados para capturar presas activas pertenecientes a niveles tróficos superiores, dado la reducción de sus capacidades motoras.

Se han estudiado múltiples parásitos de peces que generan alteraciones conductuales similares sobre sus hospedadores. Entre ellos, varios parásitos de la familia Diplostomidae (a la cual pertenece el género *Tyloodelphys*) residen y se mantienen activos dentro de los ojos de los peces (Affonso et al. 2017; McCloughlin 2016; Stumbo & Poulin 2016; Seppala et al. 2003; Chappel 1995). Estas infecciones aumentan la incidencia de patologías oftálmicas, produciendo así alteraciones en la capacidad de los peces para detectar presas y potenciales amenazas (Affonso et al. 2017; McCloughlin 2016; Stumbo & Poulin 2016; Seppala et al. 2003; Chappel 1995). Otros parásitos producen cambios conductuales en sus hospedadores a través de la modificación de la composición de su líquido cefaloraquídeo (Rivera-Torres 2022; Shaw et al. 2009). Se ha observado que cambios de las concentraciones de serotonina y dopamina están asociados a los niveles de agresividad y tiempos de respuesta a estímulos en peces (Rivera-Torres 2022; Shaw et al. 2009; Winberg & Nilsson 1993).

Es de notar que los cambios en el nicho de un hospedador asociados a infecciones parasitarias no necesariamente están asociados a cambios inducidos

en sus hábitos alimenticios o uso de hábitat. Pulkkinen et al. (2016) demostraron que, bajo condiciones de alimentación controlada, *Daphnia* presenta diferencias en su composición isotópica asociadas a la presencia de una infección parasítica. Por ello, para determinar si la variación en el nicho isotópico de los peces asociada a *Tylodelphys* sp. proviene de cambios en el forrajeo y no a cambios metabólicos, deben realizarse experimentos con alimentación controlada.

En el caso de *Tylodelphys* sp., el mecanismo subyacente probablemente tiene relación con la distribución de las larvas dentro del cráneo. Rivera-Torres (2022) describió que las larvas de *Tylodelphys* sp. pueden generar cambios en la composición del líquido cefaloraquídeo en *G. maculatus*, y se agregan consistentemente alrededor de la zona posterior del cerebro, cuyas estructuras están asociadas a funciones motoras y sensoriales (Born-Torrijos et al. 2023). Born-Torrijos et al. (2023) señalan que los parásitos intracraneales cumplen con ciertos patrones de distribución en distintos grupos de peces, sin embargo, dicho estudio explora parásitos enquistados. Las larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp. no se encuentran enquistadas dentro de su hospedador, lo que permite que estas puedan moverse dentro del pez. Stumbo & Poulin (2016) describieron que las larvas de *Tylodelphys* que se establecen en los ojos de sus hospedadores se mueven dentro de éstos en un ciclo circadiano, determinando los periodos del día en el que hay mayores alteraciones a la conducta del pez. Por ello, se deben realizar estudios de la actividad de *Tylodelphys* sp. dentro de los peces hospedadores para dilucidar si esta está asociada también a los cambios

conductuales de estos peces. Independientemente del mecanismo de acción que subyace a los cambios conductuales en las infecciones por *Tylodelphys* sp., se espera que este sea el mismo en *B. microlepidotus*, *G. maculatus* y *P. trucha*, dado que la respuesta de los nichos isotópicos a estas infecciones es consistente entre especies, observándose incluso una convergencia de sus nichos a intensidades parasitarias muy altas, independiente de las diferencias entre sus caracteres ecológicos.

El patrón global de disminución de la amplitud del nicho isotópico y posición trófica de los peces tiene similitudes a los modelos teóricos de especialización trófica mediada por parásitos propuestos por Britton & Andreou (2016). Estos autores señalan que a largo plazo la manipulación parasítica puede provocar 1) la constricción del nicho, de manera que el nicho resultante de los organismos infectados es equivalente a una porción pequeña del nicho total de la población y 2) la divergencia parcial o total del nicho del grupo de organismos infectados en relación al resto de la población. Las infecciones por *Tylodelphys* sp. generan tanto la reducción progresiva del área de las elipses como un desplazamiento de las elipses en el eje del nitrógeno, promoviendo la divergencia parcial de los nichos.

6.4| Implicancias de la modificación del nicho de peces dulceacuícolas chilenos modulada por *Tylodelphys* sp.

Los patrones de cambio de los nichos isotópicos de los peces asociados a la presencia de infecciones por *Tylodelphys* sp., sumado a la alta prevalencia e intensidad con la que se presentan en peces abundantes y de amplia distribución, sugieren que este parásito estaría modulando una parte importante de la ecología las interacciones los sistemas dulceacuícolas del centro-sur de Chile (Habit et al. 2021; George-Nascimento et al. 2020).

En primer lugar, es de notar que, aparte del estudio de Habit et al. 2021, hasta el momento no se había considerado que puede haber aspectos ecológicos de las especies de peces consideradas en este estudio que no corresponden a caracteres propios de las especies, sino que a la interacción parásito-hospedador. Este estudio demuestra que por lo menos una parte de la ecología observada de *G. maculatus* y *B. microlepidotus* corresponde a la de estas especies con *Tylodelphys* sp. Efectivamente, el nicho de los peces no parasitados de ambas especies corresponde a una porción de su nicho total, de manera que es necesario estudiarlas considerando esta relación parásito-hospedador para determinar cuánto de su ecología está modulada por *Tylodelphys* sp..

Considerando la evidencia existente, el caso de *G. maculatus* especialmente da indicios de que es probable que parte de los caracteres atribuidos a una especie

proviene en realidad de su asociación con *Tylodelphys* sp. Estos peces están descritos como generalistas: múltiples autores han señalado que su alimentación varía según las características del ambiente, la edad del pez, la hora del día y la estación del año, y que viven en ambientes con una amplia variación de condiciones (Ramírez-Álvarez et al. 2022; Manosalva et al. 2021; Delgado et al. 2019; Milano et al. 2013; Vega et al. 2013; Flores & Semenas 2002). Sin embargo, en este estudio se observó que el nicho isotópico de *G. maculatus* que no se encuentran parasitados por *Tylodelphys* sp. es acotado tanto respecto a su nicho total como al nicho de los peces parasitados. Si bien las respuestas de los nichos de distintas especies de peces a las infecciones por *Tylodelphys* sp. son similares entre sí, es posible visualizar una irregularidad en la magnitud de la diferencia entre amplitudes de nicho de *G. maculatus* infectados y no infectados. Los índices TA_R y SEA_R de esta especie son menores a 1, lo cual señala que, contrario al patrón global y al de las otras dos especies, el nicho del grupo de peces infectados es más amplio que el de los no infectados.

Considerando lo anterior, y que la relación que existe entre *G. maculatus* y parásitos del género *Tylodelphys* es especialmente estrecha, encontrándose ampliamente distribuida tanto en Chile como en Argentina, Australia y Nueva Zelanda, coincidiendo con la distribución gondwánica de la familia Galaxiidae, es posible que una parte de la conducta alimentaria y uso de hábitat que ha sido decretada como parte de la ecología propia del pez, provenga en realidad de su relación con *Tylodelphys* sp. (Achatz et al. 2021; Cussac et al. 2020). A partir de

ello, surge la necesidad de evaluar el generalismo de esta especie en el contexto de una estrecha relación parásito-hospedador, en la cual las infecciones por el parásito manipulador se encuentra en altas intensidades y prevalencias en gran parte de los sistemas dulceacuícolas del centro-sur de Chile (Habit et al. 2021; George-Nascimento et al. 2020). Tomando en cuenta el presente estudio, ya se ha reportado en dos ocasiones que se cumple el patrón de amplitud de nicho de *G. maculatus* en relación a la intensidad de las infecciones por *Tylodelphys* sp. anteriormente descrito. Habit et al. (2021) reportaron que el nicho de *G. maculatus* no infectado es más acotado que el del grupo infectado por *Tylodelphys* sp., al igual que el del grupo de peces con baja intensidad parasitaria (1-10 larvas). En dicho estudio, el nicho de los peces con baja intensidad de *Tylodelphys* sp. contenía casi completamente el de los peces no infectados, extendiéndose en el eje del carbono hacia los valores más enriquecidos en carbono pesado. Esto representa un escenario opuesto al modelo de constricción de nicho descrito por Britton & Andreou (2016), en el cual el nicho de los organismos infectados está contenido dentro del resto de la población. La respuesta del nicho de *G. maculatus* al ser infectada por un bajo número de larvas es una novedad dentro de lo que es la teoría de divergencia de nicho mediado por parásitos.

Por otro lado, con respecto a las implicancias tróficas de la presencia de *Tylodelphys* sp., como ha sido descrito por Britton & Andreou (2016), la divergencia de nichos de organismos parasitados puede provenir de la

inefectividad de éstos para competir contra individuos no parasitados de la misma especie. De esta manera, la competencia entre organismos parasitados y no parasitados disminuye. Sin embargo, de acuerdo a los patrones observados en este estudio, la competencia tanto intraespecífica como interespecífica aumentaría entre individuos con infecciones de mayores intensidades parasitarias.

La convergencia del nicho de peces de distintas especies hacia una determinada posición trófica y acotada amplitud a muy altas intensidades parasitarias señalan que infecciones por *Tylodelphys* sp. impulsan a sus hospedadores a la explotación dirigida de recursos. Los nichos modelados sugieren que tanto *B. microlepidotus* como *G. maculatus* estarían consumiendo presas pertenecientes a un grupo selecto de organismos. Esto aumentaría la competencia intra e interespecífica por dichos recursos entre peces con muy altas intensidades parasitarias.

Otra manera en la que la presencia de *Tylodelphys* sp. podría estar modulando las interacciones tróficas de los ecosistemas corresponde a lo descrito por el fenómeno PITT. Los cambios conductuales inducidos por el parásito pueden aumentar la depredación de los peces infectados por parte de los hospedadores finales. De esta manera, las especies de peces más parasitadas serían foco de una mayor presión de depredación, en comparación a otras especies de peces de dicho ecosistema que no hospedan a *Tylodelphys* sp.. A través del estudio del

nicho isotópico de los peces, solo es posible inferir sobre las interacciones de éstos con niveles tróficos inferiores. Para determinar las implicancias de la presencia de este parásito sobre niveles tróficos superiores, es necesario realizar estudios adicionales. Por ejemplo, para determinar si existe depredación dirigida de peces infectados, es posible aplicar el método utilizado por Lafferty & Morris (1996), quienes evaluaron el número de peces infectados y no infectados por un parásito manipulador que fueron depredados por aves silvestres tras 20 días, en poblaciones de peces en corrales al aire libre. Los estudios ecológicos deben considerar la incorporación de los organismos parásitos, para caracterizar correctamente las interacciones presentes en un ecosistema. Hatcher et al. (2012) señalaron que, al incorporar organismos parásitos, estudios de redes tróficas identifican cadenas tróficas más largas, más conectadas, y una mayor densidad de nodos. Para dimensionar la magnitud del efecto de *Tylodelphys* sp. sobre el nicho de sus hospedadores y discernir cuánto y qué aspectos de la ecología descritos de este pez están influenciadas por estas infecciones, y evaluar el alcance de sus efectos sobre las interacciones tróficas en un ecosistema, es necesario realizar estudios adicionales, tanto experimentales como en sistemas naturales.

7| CONCLUSIONES

En este estudio se evidencia que la presencia de *Tylodelphys* sp. en los ecosistemas dulceacuícolas chilenos es mayor a lo previamente registrado, encontrándose más de 13000 larvas parasitando 121 peces de 6 especies distintas, incluyendo especies ecológicamente distintas.

Los nichos isotópicos de *Basilichthys microlepidotus*, *Galaxias maculatus* y *Percichthys trucha* cumplen un mismo patrón general de respuesta al aumento de la intensidad parasitaria, disminuyendo la amplitud de sus nichos y sus posiciones tróficas, independientemente de las diferencias ecológicas que existan entre ellas. Esto, sumado a que las especies que se determinaron son las principales hospedadoras de *Tylodelphys* sp., *G. maculatus* y *B. microlepidotus*, son peces abundantes y ampliamente distribuidos en Chile, indica a que una parte de las interacciones tróficas descritas para los sistemas dulceacuícolas chilenos estén moduladas en cierto grado por la presencia de este parásito. Incluso, es posible que una parte de lo que está descrito como caracteres ecológicos propios de una especie, sean, en realidad, consecuencia de su relación con *Tylodelphys* sp.. Por ello, es necesario continuar estudiando para determinar el alcance de las implicancias de la presencia de este parásito en el centro-sur de Chile.

Es de notar que, como *Tylodelphys* sp., es posible que otros parásitos tengan consecuencias ecológicas a gran escala espacial y a distintos niveles tróficos, modulando hábitos alimenticios y de uso de hábitat de sus hospedadores y afectando las interacciones de competencia y depredación. Para hacer una correcta descripción de las interacciones en un ecosistema, es necesario que los estudios ecológicos comiencen a integrar organismos parásitos, especialmente si éstos han sido identificados como parásitos manipuladores.

8| BIBLIOGRAFÍA

- ACHATZ, T.J., MARTENS, J.R., KOSTADINOVA, A., PULIS, E.E., ORLOFSKE, S.A., BELL, J.A., FECCHIO, A., OYARZÚN-RUIZ, P., SYROTA, Y.Y. & TKACH, V.V.. 2021. Molecular phylogeny of *Diplostomum*, *Tylodelphys*, *Austrodiplostomum* and *Paralaria* (Digenea: Diplostomidae) necessitates systematic changes and reveals a history of evolutionary host switching events. *International Journal for Parasitology* 52(1): 47-63.
- AFFONSO, I. D. P., KARLING, L. C., TAKEMOTO, R. M., GOMES, L. C. & NILSSON, P. A. 2017. Light-induced eye-fluke behavior enhances parasite life cycle. *Frontiers in Ecology and the Environment* 15(6): 340–341.
- ANDERSON, M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Australian Ecology* 46(1):26-32.
- BARBER, I., HOARE, D. & KRAUSE, J. 2000. Effects of parasites on fish behaviour: A review and evolutionary perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10(1): 131-165.
- BORN-TORRIJOS, A., VAN BEEST, G. S., MERELLA, P., GARIPPA, G., RAGA, J. A., & MONTERO, F. E. 2023. Mapping a brain parasite: occurrence and spatial distribution in fish encephalon. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 21, 22-32.
- BRITTON, J. & R. ANDREOU, D. 2016. Parasitism as a driver of trophic niche specialisation. *Trends in Parasitology* 32(6): 437-445.
- BRITTON, J. R. PEGG, J. & WILLIAM, C.F. 2011. Pathological and ecological host consequences of infection by an introduced fish parasite. *PLOS ONE* 6(10): 8.
- CAZAORLA, A. L. & SIDORKEWICJ, N. 2011. Age, growth and reproduction in creole perch (*Percichthys trucha*) in the Negro River, Argentinean Patagonia. *Journal of Applied Ichthyology* 27(1): 30-38.
- CHAPPEL, L. H. 1995. The biology of diplostomatid eyeflukes of fishes. *Journal of Helminthology* 69(2): 97-101.

- COPLEN, T.B. 2011. Guidelines and recommended terms for expression of stable-isotope-ratio and gas-ratio measurement results. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 25(17): 2538–2560.
- CUSSAC, V.E., BARRANTES, M.E., BOY, C.C., GÓRSKI, K., HABIT, E., LATTUCA, M.E., & ROJO, J.H. 2020. New insights into the distribution, physiology and life histories of south american galaxiid fishes, and potential threats to this unique fauna. *Diversity* 12(5): 178.
- DELGADO, M.L. GÓRSKI, K., HABIT, E. & RUZZANTE, D.E. 2019. The effects of diadromy and its loss on genomic divergence: The case of amphidromous *Galaxias maculatus* populations. *Molecular Ecology* 28(24): 5217-5231.
- DUBOIS, S., SAVOYANE, N., SAURIAU, P., BILLY, I., MARTÍNEZ P. & de MONTAUDOUIN, X. 2009. Digenean trematodes-marine mollusc relationships: a stable isotope study. *Diseases of Aquatic Organisms* 84(1): 65-77.
- FERNÁNDEZ, M.V., BRUGNI, N.L., VIZZOI, G.P. & SEMENAS, L. 2010. THE Relationship between fish assemblages and the helminth communities of a prey fish, in a group of small shallow lakes. *Journal of Parasitology* 96(6): 1066-1071.
- FERNÁNDEZ, M.V., LALLEMENT, M., RECHENCQ, M., VIGILANO, P.H., SOSNOVOSKY, A. & MACCI, P.J. 2018. Top predator fish assemblages in Northern Patagonia, Argentina. What factors regulate their patterns of distribution and abundance? *Austral Ecology* 43(6): 651-662.
- FLORES, V. & SEMENAS, L. 2002. Infection patterns of *Tylodelphys bariloensis* and *T. crubensis* (Trematoda: Diplostomatidae) metacercariae in *Galaxias maculatus* (Osmeriformes: Galaxiidae) from two Patagonian lakes and observations on their geographical distribution in the southern Andean region, Argentina. *Journal of Parasitology* 88(6): 1135-1139.
- FRY, B. 2006. *Stable Isotope Ecology*. Springer-Science+Business Media, New York. 308 pp.
- GALAKTIONOV, K.V. & DOBROVOLSKIJ, A. 2003. *The Biology and Evolution of Trematodes*. Springer-Science+Business Media, Dordrecht. 592 pp.
- GEORGE-NASCIMIENTO, M., LÓPEZ-RODRIGUEZ, R. & GÓRSKI, K. 2020. Geographic variation in composition of metazoan parasite infracommunities in *Galaxias maculatus* Jenyns 1842 (Osmeriformes: Galaxiidae) in southern Chile (38-47 degrees S). *Revista Chilena De Historia Natural* 93(1): 6.

- GROBBELAAR, A., VAN AS, L.L., BUTLER, H.J. & VAN AS, J.G. 2014. Ecology of diplostomid (Trematoda: Digenea) infection in freshwater fish in southern Africa. *African Zoology* 49(2): 222-232
- HABIT, L.J., LÓPEZ-RODRÍGUEZ, R. & GÓRSKI, K. 2021. Efectos de la infección del parásito intracraneal *Tylodelphys* sp. sobre el nicho isotópico de *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842). Tesis para optar al grado de Licenciado en Biología. Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- HABIT, E., PIEDRA, P., RUZZANTE, D., WALDE, S., BELK, M., CUSSAC, V., GONZALEZ, J. & COLIN, N. 2010. Changes in the distribution of native fishes in response to introduced species and other anthropogenic effects. *Global Ecology & Biogeography* 19(1): 697 – 710.
- HABIT, E., JARA, A., COLIN, N., OYANEDEL, A. VICTORIANO, P., GONZÁLEZ, J. & SOLIS-LUFÍ, J. 2009. Threatened fishes of the world: *Diplomystes camposensis* Arratia, 1987 (Diplomystidae). *Environmental Biology of Fishes* 84: 393 – 394.
- HABIT, E. 2005. Aspectos de la biología y hábitat de un pez endémico de Chile en peligro de extinción (*Diplomystes nahuelbutaensis* ARRATIA, 1987). *Interciencia* 30(1): 8-11.
- HATCHER, M.J., DICK, J T. & DUNN, A.M. 2012. Diverse effects of parasites in ecosystems: linking interdependent processes. *Frontiers in Ecology and the Environment* 10(4): 186-194.
- HETTE-TRONQUART, N. 2019. Isotopic niche is not equal to trophic niche. *Ecology Letters* 22(11): 1987-1989.
- HOBSON, K. A. 1999. Tracing origins and migration of wildlife using stable isotopes: a review. *Oecologia* 120(3): 314-326.
- JACKSON, A., PARNELL, A., INGER, R. & BRARHOP, S. 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology* 80(1):595-602.
- JUNCOS, R., MILANO, D., MACCI P.J. & VIGILANO P.H. 2015. Niche segregation facilitates coexistence between native and introduced fishes in a deep Patagonian lake. *Hydrobiologia* 747(1): 53–67.
- KENNEDY C. R. 1981. Long term studies on the population biology of two species of eyefluke, *Diplostomum gasterostei* and *Tylodelphys clavata* (Digenea: Diplostomatidae), concurrently infecting the eyes of perch, *Perca fluviatilis*. *Journal of Fish Biology* 19(2): 221–236.

- KNUDSEN, R., SIWERTSSON, A., ADAMS, C.E., NEWTON, J. & AMUNDSEN, P.A. 2014. Similar patterns of individual niche use are revealed by different time-integrated trophic tracers (stable isotopes and parasites). *Ecology of Freshwater Fish* 23(2): 259-268.
- LAFFERTY, K.D. 1999. The evolution of trophic transmission. *Parasitology Today* 15(3):111-115.
- LAFFERTY, K. & MORRIS, K. 1996. Altered Behavior of Parasitized Killifish Increases Susceptibility to Predation by Bird Final Hosts. *Ecology* 77(1): 1390-1397.
- LESCORD G.L., CLAYDEN, M., KIDD, K.A., KIRK, J., WANG, X., O'DRISCOLL, N. & MUIR, D.C. 2019. Assessing the utility of sulfur isotope values for understanding mercury concentrations in water and biota from high Arctic lakes. *Arctic Science* 5(2): 90-106.
- LÓPEZ-RODRIGUEZ, R., GEORGE NASCIMENTO, M., & GÓRSKI, K. 2021. Effects of the cranial parasite *Tylodelphys* sp. on the behavior and physiology of puye *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842). *Peerj* 9(1): 15.
- LYSY, M., STASKTO A.D. & SWANSON, H.K. 2014. niche ROVER: (Niche) (R)egion and Niche (Over)lap metrics for multidimensional ecological niches (Version 1.0). <https://cran.r-project.org/web/packages/nicheROVER/index.html>
- MACEDA-VEIGA, A., GREEN, A.J., POULIN, R. & LAGRUE, C. 2016. Body condition peaks at intermediate parasite loads in the common bully *Gobiomorphus cotidianus*. *PLOS ONE* 11(12) e0168992.
- MANOSALVA, A.J., PEREZ, S., TOLEDO, B., COLIN, N., HABIT, E.M. & GÓRSKI, K. 2021. Variation of stomach content and isotopic niche of puye *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842) in large river systems of southern Chile. *Freshwater Biology* 66(6): 1110-1122.
- MACROGLIESE, D.J. 2005. Parasites of the superorganism: are they indicators of ecosystem health? *International Journal for Parasitology* 35(7): 705-716.
- MCARDLE, B.H. & ANDERSON, M.J. 2001. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* 82(1): 290-297.
- MCCLOUGHLIN, T. 2016. A Sight for Sore Eyes: *Diplostomum* and *Tylodelphys* in the Eyes of Fish. *Iranian Journal of Parasitology* 11(3): 429-430.

- MILANO, D., AIGO, J.C. & MACCI, P.J. 2013. Diel patterns in space use, food and metabolic activity of *Galaxias maculatus* (Pisces: Galaxiidae) in the littoral zone of a shallow Patagonian lake. *Aquatic Ecology* 47(3): 277-290.
- MULLINEAUX, S.T., KOSTKA, B., ROCK, L. *et al.* 2022. Soil $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ baselines clarify biogeographic heterogeneity in isotopic discrimination of European badgers (*Meles meles*). *Science Report* 12(1): 200.
- MURILLO, V.A. 2003. Relaciones Ecológicas de *Percichthys Trucha* (Valenciennes, 1833) (Osteichthyes: Percichthyidae) en un Sistema Fluvial: alimentación y Parasitismo. Tesis de Magíster. Universidad de Concepción. Concepción, Chile.
- NEIRA, F. 1984. Biomorfología de las lampreas parásitas chilenas *Geotria australis* Gray, 1851 y *Mordacia lapicida* (Gray, 1851) (Petromyzontiforms). *Gayana Zoología* 48(1): 3-40.
- NEWSOME, S.D., del RIO, C.M., BEARHOP, S. & PHILLIPS, D.L. 2007. A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5(8): 429-436.
- ORTIZ-SANDOVAL, J.J., GÓRSKI, K. GONZÁLEZ-DÍAZ, A. & HABIT, E. 2015. Trophic scaling of *Percichthys trucha* (Percichthyidae) in monospecific and multispecific lakes in western Patagonia. *Limnologica* 53(1): 50-59.
- OTTURI, M.G., REGGI, P.E., BATTINI, M.A. & BARRIGA, J.P. 2020. The effects of trophic interaction between the Patagonian native *Percichthys trucha* and the invasive *Oncorhynchus mykiss* during the juvenile period. *Biological Invasions* 22(11): 3293-3305.
- PASZKOWSKI, C. A. & TONN, W. M. 2000. Community concordance between the fish and aquatic birds of lakes in northern Alberta, Canada: the relative importance of environmental and biotic factors. *Freshwater Biology* 43(3): 421-437.
- PINGRAM, M.A., COLLIER, K.J., HAMILTON, D.P., HICKS, B.J. & DAVID, B.O. 2014. Spatial and temporal patterns of carbon flow in a temperate, large river food web. *Hydrobiologia* 729(1):107-131.
- POST, D.M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology* 83(3): 703-718.
- PULKKINENN, K., ALTO S.L. & NYKANEN, H. 2016. Parasite infection alters host stable-isotope composition under controlled feeding. *Freshwater Biology* 61(11): 1981-1990.

- QUEZADA-ROMEGIALLI, C., JACKSON, A.L., HAYDEN, B., KAHILAINEN, K.K., LOPES, C. & HARROD, C. 2018. tRophicPosition, an R package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. *Methods in Ecology and Evolution* 9(6): 1592–1599.
- RAMÍREZ-ÁLVAREZ, R., CONTRERAS, S., VIVANCOS, A., REID, M., LÓPEZ-RODRÍGUEZ, R. & GÓRSKI, K. 2022. Unpacking the complexity of longitudinal movement and recruitment patterns of facultative amphidromous fish. *Scientific Reports* 12(1): 3164.
- RAMÍREZ, A. & P. GUTIERREZ-FONSECA. 2014. Functional feeding groups of aquatic insect families in Latin America: A critical analysis and review of existing literature. *Revista De Biología Tropical* 62(1): 155-167.
- REVENGA, J. & P. SCHEINERT 1999a. Absence of *Tylodelphys barilochensis* (Trematoda: Diplostomidae): induced mortality in "puyenes" *Galaxias maculatus* (Teleostomi: Galaxiidae) from Southern Argentina. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 94(1): 659-660.
- REVENGA, J. & P. SCHEINERT. 1999b. Infections by helminth parasites in "puyenes", *Galaxias maculatus* (Galaxiidae, Salmoniformes), from Southern Argentina with *Special Reference to Tylodelphys barilochensis* (Digenea, Platyhelminthes). *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 94(1): 605-609.
- RIVERA-TORRES, P. 2022. Evaluación de cambios físicos producidos por el tremátodo *Tylodelphys* sp. en el sistema nervioso central del pez puye *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842). Tesis de Grado de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Austral de Chile.
- ROGAWA, A., OGATA, S. & MOUGI, A. 2018. Parasite transmission between trophic levels stabilizes predator-prey interaction. *Scientific Reports* 8(1): 6.
- RUEHLE, B. & POULIN, R. 2019. No impact of a presumed manipulative parasite on the responses and susceptibility of fish to simulated predation. *Ethology* 125(10): 745-754.
- SEPPALA, O., KARVONEN, A. & VALTONEN, E.T. 2004. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke - fish interaction. *Animal Behaviour* 68(1): 257-263.
- SHAW, J. C., KORZAN, W. J., CARPENTER, R. E., KURIS, A. M., LAFFERTY, K. D., SUMMERS, C. H., & ØVERLI, Ø. 2009. Parasite manipulation of brain monoamines in California killifish (*Fundulus parvipinnis*) by the trematode *Euhaplorchis californiensis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1659), 1137-1146.

- SIEGMUND, I., FRANJOLA, R. & TORRES P. 1997. Diplostomatid metacercariae in the brain of silversides from Lake Riñihue, Chile. *Journal of Wildlife Diseases* 33(2):362-4.
- STUMBO, A. D. & POULIN, R. 2016. Possible mechanism of host manipulation resulting from a diel behaviour pattern of eye-dwelling parasites? *Parasitology* 143(10):1261-1267.
- SWANSON, H.K., LYSY, M., POWER, M., STASKO, A.D., JOHNSON J.D. & REIST, J.D. 2015. A new probabilistic method for quantifying n-dimensional ecological niches and niche overlap. *Ecology* 96(1):318–324
- THOMAS F, ADAMO S. & MOORE J. 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes* 68(3):185-99.
- TIMI, J.T., & POULIN, R. 2020. Why ignoring parasites in fish ecology is a mistake. *International Journal for Parasitology* 50(10-11): 755-761.
- VÁZQUES-CASTILLO, S., HINOJOSA, I. A., COLIN, N., POBLETE, A. & GÓRSKI, K. 2021. The presence of kelp *Lessonia trabeculata* drives isotopic niche segregation of redspotted catshark *Schroederichthys chilensis*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 258.
- VEGA, R., DANTAGNAN, P., MARDONES, A., VALDEBENITO, I., ZAMORANO, J. & ENCINA, F. 2013. Bases biológicas para el cultivo del puye *Galaxias maculatus* (Jenyns, 1842): una revisión. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41(1): 369-386.
- VENEGAS, P. M. & ESPINOZA C. D. 2018. Habitat suitability for Chilean silverside (*Basilichthys microlepidotus*) in the Mataquito River, Maule Region: a geospatial approach. *Marine and Freshwater Research* 69(8): 1301-1311.
- VILA I. P., SOTO D. B. & BAHAMONDES I. 1981. Age and growth of *Basilichthys australis* Eigenmann 1927 in Rapel Reservoir, Chile. (Pisces, Atherinidae), *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 16(1): 9-22.
- VIOZZI, G., FLORES, V., MARÍN, S. L., MANCILLA, M. & CARVAJAL, J. 2008. Parasites of the Red Jollytail, *Brachygalaxias bullocki* (Osmeriformes: Galaxiidae), from the Maullín River, Patagonia, Chile. *Comparative Parasitology* 75(2): 326-328.
- VIOZZI, G.P. & FLORES, V.R. 2002. Population dynamics of *Tylodelphys destructor* and *Diplostomum mordax* (Digenea: Diplostomidae) co-occurring in the brain of Patagonian silversides from Lake Pellegrini, Patagonia, Argentina. *Journal of Wildlife Diseases* 38(4):784-8.

WINBERG, S. & NILSSON, G. E. 1993. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 106(3), 597-614.

9| ANEXO

Tabla A1. Indicadores parasitarios. Número de individuos recolectados infectados por *Tylodelphys* sp. (PI) y no infectados por *Tylodelphys* sp. (PNI), porcentaje de peces infectados por *Tylodelphys* sp. (prevalencia parasitaria), número total de larvas de *Tylodelphys* sp. observados y promedio de larvas metacercarias encontradas por pez infectado (intensidad parasitaria media), en cada especie de pez. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; Dn: *Diplomystes nahuelbutaensis*; Ga: *Geotria australis*; Chg: *Cheirodon galusdae*.

	PI	PNI	Prevalencia de <i>Tylodelphys</i> sp. (%)	Abundancia de <i>Tylodelphys</i> sp. (n)	Intensidad parasitaria promedio (n)
Bmi	50	24	67,6	5648	113
Gm	45	13	77,6	2301	51
Pt	6	39	13,3	126	21
Dn	3	0	100	5714	1905
Ga	7	24	22,6	149	21
Chg	1	35	2,8	1	1
Total	112	135	45,3	13939	124

Tabla A2. Número de larvas metacercarias de *Tyloodelphys* sp. contabilizadas por especie de pez y por río de origen. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; Dn: *Diplomystes nahuelbutaensis*; Ga: *Geotria australis*; Chg: *Cheirodon galusdae*. N/A: la especie de pez no fue encontrada en el río indicado en la columna.

	Biobío	Cautín	Laja	Renaico	Vilcún	Total
Bmi	43	25	1222	4329	29	5648
Gm	223	17	N/A	2052	9	2301
Pt	0	0	0	126	N/A	126
Dn	N/A	N/A	N/A	5714	N/A	5714
Ga	N/A	0	N/A	149	0	149
Chg	1	N/A	0	0	N/A	1
Total	267	42	1222	12370	38	13939

Tabla A3. Tipos y número total de endoparásitos extraídos de cada especie de pez. %*Tylodelphys* sp. indica el porcentaje que representan las larvas de *Tylodelphys* sp. dentro del total de parásitos contabilizados en cada especie de pez. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; Dn: *Diplomystes nahuelbutaensis*; Ga: *Geotria australis*; Chg: *Cheirodon galusdae*. NI: Parásito no identificado.

Phylum	Género	Bmi	Gm	Pt	Dn	Ga	Chg	Total
Platyhelminthes	<i>Tylodelphys</i> sp.	5648	2301	126	5714	149	1	13939
	<i>Acanthostomoides</i> sp.	6	104	1	0	0	0	111
	<i>Allocreadium</i> sp.	9	2	0	0	0	0	11
	<i>Genarchella</i> sp.	0	11	0	0	0	0	11
	<i>Homalometron</i> sp.	0	0	0	0	75	0	75
	<i>Posthodiplostomum</i> sp.	14	4	6	0	0	1	25
	<i>Steganoderma</i> sp.	408	0	0	0	0	0	408
	NI	0	1	2	0	1	0	4
Nematoda	<i>Contraecaecum</i> sp.	4	4	5	0	0	0	13
	<i>Camallanus</i> sp.	0	0	7	0	0	0	7
	NI	8	2	0	0	0	6	16
Acantocephala	<i>Acantocephalus</i> sp.	0	0	1	0	0	1	2
	<i>Pomphorhynchus</i> sp.	12	6	44	0	0	13	75
NI		0	4	0	0	0	1	5
	Total	6111	2439	192	5714	225	24	14705
	% <i>Tylodelphys</i> sp.	92,4	94,3	65,6	100	66,2	4,2	94,8

Tabla A4. Resultados de PERMANOVA pareado (valores p) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de organismos de línea base de cada río. Los valores en negrita indican una diferencia significativa entre ríos.

	Vilcún	Renaico	Laja	Cautín
Biobío	0,1686	0,0109	0,0305	0,6292
Cautín	0,3236	0,1407	0,2099	
Laja	0,0047	0,9711		
Renaico	0,0016			

Tabla A5. Número total de organismos recolectados de cada categoría y subcategoría de línea base por río. La categoría de vegetales está separada en grupos según tipo de planta y su capacidad de fijación de nitrógeno; los organismos correspondientes al seston son agrupados según el tamaño de la red utilizada para obtener la muestra (pequeño, mediano y grande, para redes de 20, 50 y 100 μm respectivamente); los macroinvertebrados están agrupados según su función trófica.

Categoría	Subcategoría	Biobío	Cautín	Laja	Renaico	Vilcún	Total
Macroinvertebrados	Recolectores	6	5	8	5	4	28
	Perforadores	1	1	2	2	0	6
	Depredadores	14	2	11	13	5	45
	Raspadores	4	1	8	3	2	18
	Fragmentadores	4	0	3	1	1	9
Seston	Pequeño	3	1	2	3	1	10
	Mediano	3	0	3	3	1	10
	Grande	3	1	3	3	1	11
Vegetales	Árboles	3	1	2	4	2	12
	Otras plantas	3	0	2	6	0	11
Perifiton	-	3	1	2	3	1	10
Total		47	13	46	46	18	170

Tabla A6. Resumen de los Análisis de Varianza Permutacional (PERMANOVA) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ realizados para cada categoría de organismos de línea base, según el factor río de origen. Los valores en negrita indican una diferencia significativa entre ríos.

Categoría de organismos	df	SS	MS	Pseudo-F	p (perm)
Vegetales	4	424,7	374,5	0,6033	0,7148
Perifiton	4	244,7	157,2	0,696	0,6169
Seston	4	335	85,64	18,93	0,0001
Macroinvertebrados	4	2060	1860	2,715	0,0151

Tabla A7. Resumen de los Análisis de Varianza Permutacional (PERMANOVA) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ realizados para las categorías de organismos de línea base, según los subgrupos descritos para cada una: la categoría de vegetales es separada en grupos según tipo (árboles, otras plantas) y su capacidad de fijación de nitrógeno (fijadoras, no fijadoras); los organismos correspondientes al seston son agrupados según el tamaño de la red utilizada para obtener la muestra (pequeño, mediano y grande, para redes de 20, 50 y 100 μm respectivamente); los macroinvertebrados están agrupados según su función trófica (recolectores, perforadores, depredadores, raspadores, fragmentadores). Los valores en negrita indican una diferencia significativa entre subcategorías.

<i>Categoría</i>	<i>Factor</i>	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>Pseudo-F</i>	<i>p (perm)</i>
Vegetales	Tipo	1	69,346	69,346	4,1984	0,0108
	Capacidad de Fijación de Nitrógeno	1	25,877	25,877	1,5667	0,2251
Seston	Tamaño	2	335	310,8	1,089	0,353
Macroinvertebrados	Función Trófica	4	2060	1963	1,242	0,281

Tabla A8. Resultados de PERMANOVA pareado (valores p) de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de especies de peces. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*.

	Bmi	Gm
Pt	0,053	0,0024
Gm	0,213	

Tabla A9. Resultados marginales de las DistLM realizadas con las variables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰). Los valores en negrita indican una diferencia significativa entre especies.

Predictor	% variabilidad explicada por el predictor	R ² Ajustado	Pseudo-F	Valor p
LogIntensidad	22	0,21	28,23	0,0001
LogLongitud	0,2	0,01	0,25	0,777

Tabla A10. Resultados marginales de las DistLM realizadas para las especies *Basilichthys microlepidotus* (Bmi) y *Galaxias maculatus* (Gm) con las variables $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (‰). Los valores en negrita indican una diferencia significativa entre especies.

Especie	Predictor	% variabilidad explicada por el predictor	R ² Ajustado	Pseudo-F	Valor p
Bmi	LogIntensidad	20,8	0.19	12,58	0,0001
	LogLongitud	1,8	0,01	0,49	0,592
Gm	LogIntensidad	23,3	0.22	13,33	0,0001
	LogLongitud	4,2	0,02	1,94	0,150

Tabla A11. Posición trófica promedio basada en $\delta^{15}\text{N}$ (‰) \pm SD de cada categoría de intensidad parasitaria de cada especie. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*; PI, peces infectados por *Tylodelphys* sp.; PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más.

	Total	PI	PNI	Baja	Media	Alta	Muy Alta
Bmi	4,15 \pm 0,21	3,87 \pm 0,19	4,69 \pm 0,24	4,19 \pm 0,27	4,01 \pm 0,21	3,91 \pm 0,22	3,63 \pm 0,19
Gm	4.29 \pm 0.21	4,20 \pm 0,21	4,63 \pm 0,23	4,57 \pm 0,22	4,16 \pm 0,39	3,90 \pm 0,28	3,73 \pm 0,19
Pt	4.26 \pm 0.21	3,76 \pm 0,19	4,34 \pm 0,21	3,89 \pm 2.58	3,76 \pm 0,26	3,88 \pm 2,55	-

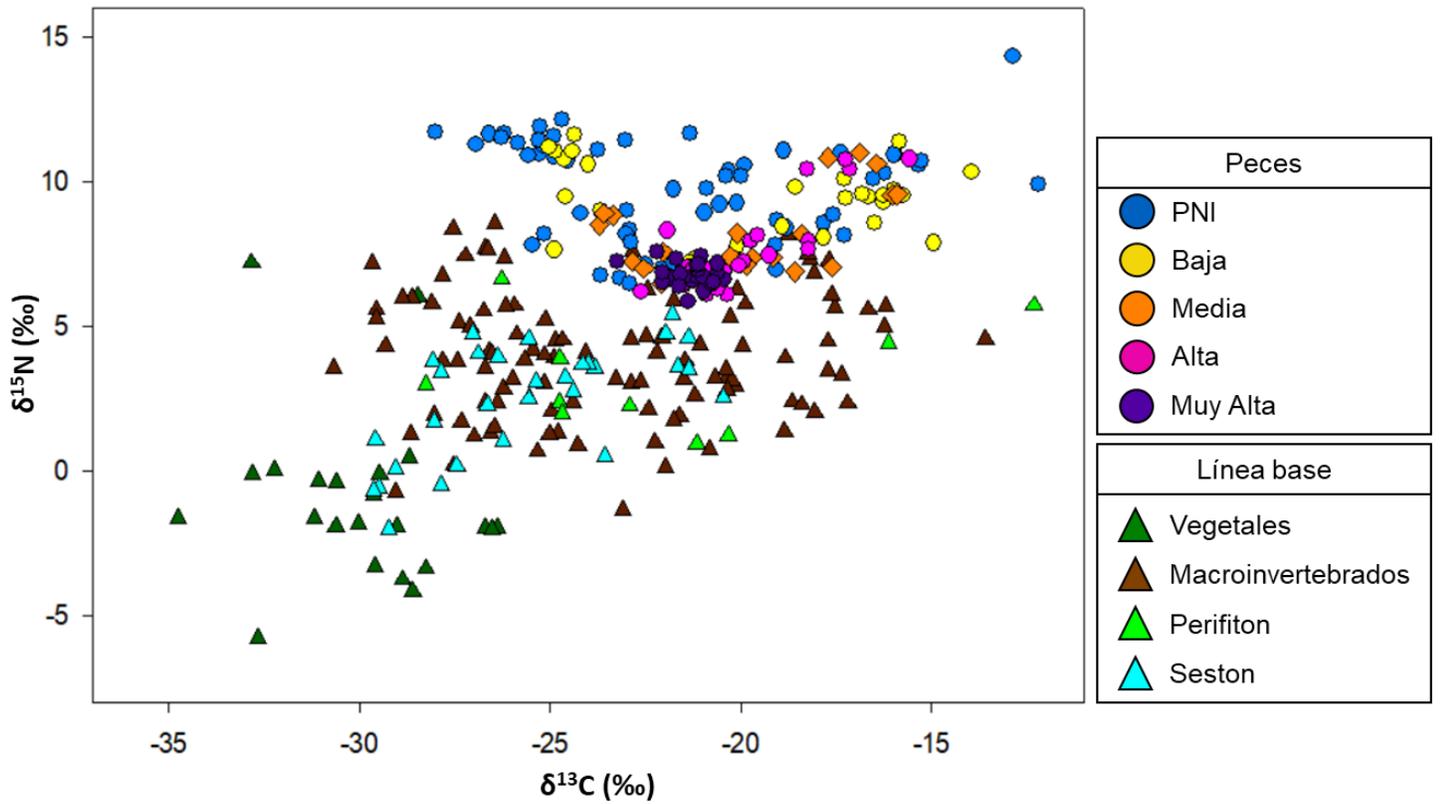


Figura A1. Gráfico de dispersión de composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de los peces recolectados categorizados según intensidad de infección por *Tyloodelphys* sp. y de organismos de línea base.

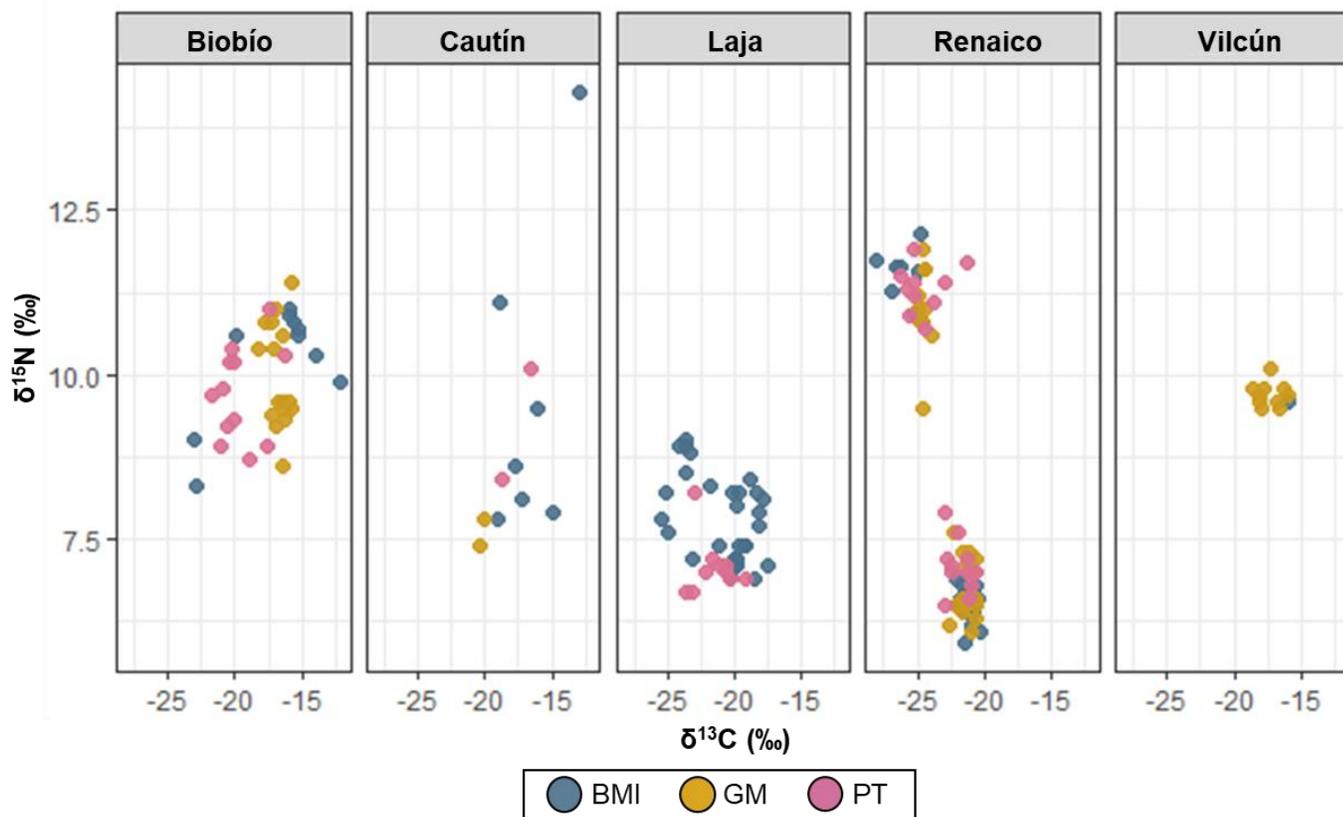


Figura A2. Gráfico de dispersión de composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de cada pez recolectado, según río de origen y especie. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*.

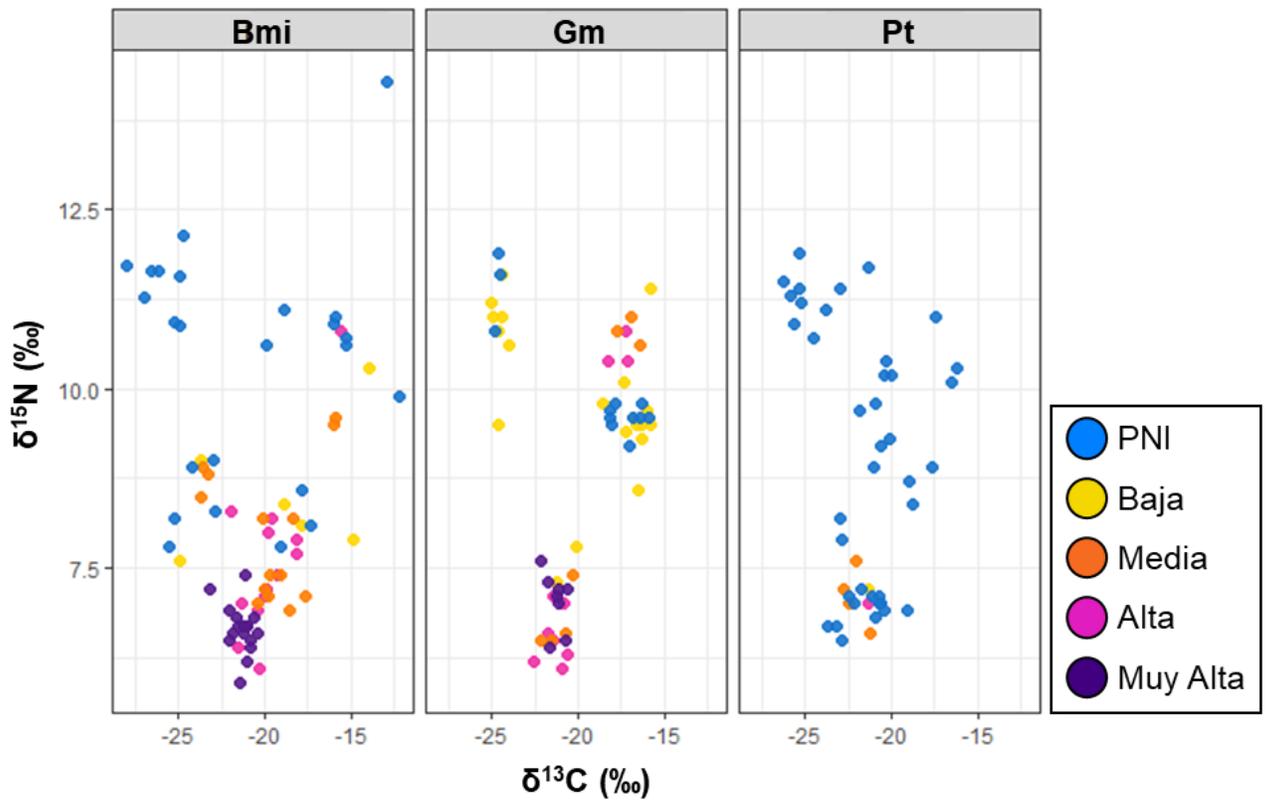


Figura A3. Gráfico de dispersión de composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de cada pez recolectado, según especie e intensidad parasitaria. PNI, peces no infectados; Baja, peces infectados por 1 a 10 larvas metacercarias de *Tylodelphys* sp.; Media, peces infectados por 11 a 30 larvas; Alta, peces infectados por 31 a 100 larvas; Muy alta, peces infectados por 101 larvas o más. Bmi: *Basilichthys microlepidotus*; Gm: *Galaxias maculatus*; Pt: *Percichthys trucha*.