

## Biodiversidad de Hirudinea en ambientes dulceacuícolas serranos (Provincia de Buenos Aires), Argentina

B. S. Gullo

Cátedra Zoología Invertebrados I, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Paseo del Bosque s/n, B1900FWA, La Plata, Argentina. bgullo@fcnym.unlp.edu.ar

**RESUMEN.** Diez especies de hirudíneos Glossiphoniidae fueron recolectadas en ambientes dulceacuícolas de Sierra de la Ventana: *Helobdella simplex* (Moore, 1911); *Helobdella brasiliensis* Weber, 1915; *Helobdella triserialis triserialis* (Blanchard, 1849); *Helobdella adiaistola* Ringuelet, 1972; *Helobdella hyalina* (Ringuelet, 1942); *Helobdella triserialis lineata* (Verrill, 1874), *Helobdella duplicata duplicata* (Moore, 1911); *Theromyzon propinquum* Ringuelet, 1947 y *Helobdella cordobensis* Ringuelet, 1943. Esta última representa un nuevo registro para la provincia de Buenos Aires. La asociación entre las especies fue analizada empleando análisis de agrupamiento y coeficiente de similitud de Jaccard, revelando la existencia de dos grupos. Las relaciones entre las especies y variables ambientales fueron analizadas con Análisis Canónico de Correspondencia (ACC). El análisis sugiere que el 99,1% de la correlación entre las especies y variables se distribuye sobre el eje 1 del diagrama de ordenamiento. *H. simplex*, *H. triserialis triserialis*, *H. triserialis lineata*, *H. brasiliensis* y *H. hyalina* se hallan próximas al centro del diagrama debido a su mayor rango de tolerancia. *H. adiaistola*, y *H. brasiliensis* están correlacionadas positivamente con el pH, mientras que *H. cordobensis* está negativamente correlacionada con esta variable. Por otra parte, *H. adiaistola* y *H. brasiliensis* están correlacionadas negativamente con la temperatura del agua y la riqueza específica mostró la misma tendencia. La importancia de la investigación radica en las particularidades locales del área, donde los ambientes constituyen verdaderos refugios de especies con diferentes requerimientos ecológicos que resultan fundamentales para la conservación de la biodiversidad.

**Palabras clave:** sanguijuelas, Glossiphoniidae, ecología

**EXPANDED ABSTRACT.** Biodiversity of Hirudinea, in freshwater low-altitude mountainous environment (Provincia de Buenos Aires), Argentina. Leeches are important benthic members in rivers and streams of low altitude mountain environments and show a high grade of endemic species in the Neotropical Region (Ringuelet, 1944; 1947; 1985; Christoffersen, 2009). As members of food chains they act as predators or as preys. They are intermediate host in life cycles of Digenea, Cestoda and parasitic Protozoa. Their medicinal use is known, as well as their role as pollution bioindicator (Sawyer, 1986). On the other hand, there are many contributions to the

knowledge of this group, particularly: the discovery of new species Siddall; *et al.* (2001, 2004), Gullo (2006, 2008); Kutchera *et al.* (2013), the redescription of others in the basis of molecular analysis (Mosser, *et al.* 2012 a y b; 2013); the construction of phylogeny (Siddall, *et al.* 2003, 2005) and the contribution to the global Hirudinea diversity (Sket, 2008).

Despite their importance as benthic members, it is not common to include them in the analysis of benthic macroinvertebrates, because of their difficult identification. There is a lack of studies of leech biodiversity in Argentina and no antecedents for low altitude mountain environments are recorded.

The heart of the investigation lies in the specific conditions of the area in question, where slightly varying environments provide the proper ecological requirements for a variety of species which are essential for biodiversity conservation.

The specimens were collected in seasonal samplings during 2009, 2010 and 2011. The selected sampling locations were: Sauce Grande and Sauce Chico rivers; San Bernardo, El Negro, Rivera and El Divisorio streams. Physical and chemical parameters as temperature, pH, dissolved oxygen, oxygen saturation, conductivity and total dissolved solids were recorded in each location. Three Surber samples (0.09 m<sup>2</sup>, 250 µm mesh size) were taken in each stream. The collected specimens were fixed in 5% formaldehyde solution for 24 hours and preserved in alcohol 70%.

Associations between species and environmental variables were analyzed using correspondence canonical analysis (CCA) taking into account the seven most plentiful species and four environment variables.

Associations among species were analyzed using clustering analysis (UPGMA) and the Jaccard similarity index. Pearson's correlation coefficient and Student's *t*-distribution were used as well.

Ten leech species were recorded in a freshwater environment at Sierra de la Ventana: *Helobdella simplex* (Moore, 1911); *Helobdella brasiliensis* Weber, 1915; *Helobdella triserialis triserialis* (Blanchard, 1849); *Helobdella adiastrata* Ringuélet, 1972; *Helobdella hyalina* (Ringuélet, 1942); *Helobdella triserialis lineata* (Verrill, 1874), *Helobdella duplicata duplicata* (Moore, 1911); *Theromyzon propinquum* Ringuélet, 1947 and *Helobdella cordobensis* Ringuélet, 1943. *Helobdella cordobensis* represents the first recording of its kind in the Buenos Aires province.

The three most frequent and abundant species (more than 150 individuals in total) were *H. simplex* (31,55% n=348), *H. triserialis s. st.* (30%, n=331) and *H. brasiliensis* (14,50%; n=160), while *H. hyalina* (6,98%, n=77), *H. adiastrata* (5,25%, n=58), *H. cordobensis* (4,98% n=54), *H. triserialis lineata* (n=33, 2,99%), *H. duplicata* (2,17 n=24), *H. michaelsoni* (1,17% n=13) and *T. propinquum* (0,36% n=4) showed lower frequency of occurrence and a lower number of individuals.

Associations among species were analyzed using clustering analysis with the Jaccard index. The clustering analysis revealed two species assemblages. A first group is represented by six species: *H. brasiliensis*, *H. triserialis s.st.*, *H. triserialis lineata*, *H. simplex*, *H. hyalina* and *H. adiastrata* and the second group is constituted by only one species, *H. cordobensis*.

Relationships between species and environmental variables were examined with CCA. Axis 1 of the ordination diagram shows 99.1 % correlation between species and environmental variables. The occurrence of *H. simplex*, *H. triserialis s. st.*, *H. triserialis lineata*, *H. brasiliensis* and *H. hyalina* near the centre of the ordination diagram is a consequence of their wide range of tolerance. *H. adiastrata* ( $r = 0.44$ ,  $p < 0.05$ ) and *H. brasiliensis* ( $r = 0.30$ ,  $p < 0.05$ ) are positively correlated to pH, whereas *H. cordobensis* ( $r = -0.80$ ,  $p < 0.01$ ) is negatively correlated to that variable. In addition, *H. adiastrata* ( $r = -0.90$   $p < 0.01$ ) and *H. brasiliensis* ( $r = -0.77$ ,  $p < 0.01$ ) are negatively correlated to water temperature and the specific richness shows the same trend ( $r = -0.79$ ,  $p < 0.01$ ).

Leeches in Sierra de la Ventana do not differ from that found in other lentic and lotic environments of Buenos Aires province (Gullo, 1991; Darrigran *et al.*, 1998; Gullo, 2007; César *et al.*, 2009). The present records in Buenos Aires province indicate that *Helobdella cordobensis* is only found in freshwater low-altitude mountainous environment at Sierra de la Ventana.

Hirudinea are more abundant into submerged vegetation and their amount decreases with depth as a consequence of the lack of vegetation, adequate substrates and nutrients. Several factors limit the leech number and species found in an environment. In order of importance, they are: nutrient availability, type of substrate, water depth, stream, size and type of the water body, water hardness, pH, temperature, dissolved oxygen, cloudiness and salinity (Sawyer, 1986).

The UPGMA clustering showed the association among *H. brasiliensis*, *H. triserialis s.st.*, *H. simplex*, *H. triserialis lineata*, *H. hyalina* and *H. adistola*, being the first three species the more frequent and abundant in the sampling sites. It should be pointed out that *H. triserialis s. st.*, *H. simplex* and *H. hyalina* were the more abundant and frequent species recorded by César *et al.* (2009) in Martín García Island.

After analyzing the relationships among species and environment variables it is concluded that *H. simplex*, *H. triserialis s. st.*, *H. triserialis lineata*, *H. brasiliensis* and *H. hyalina*, which are the more frequent species, have a wide range of tolerance to the fluctuations of environmental parameters, and as a consequence they are located close to the center of the ACC diagram.

No statistically significant results were obtained for the correlation of *H. simplex* with pH and of *H. hyalina* with conductivity. In this respect, these results differ from those obtained by César *et al.*, 2009. On the other hand, *H. adistola* and *H. cordobensis*, which are less frequent, seem to be more sensitive to pH fluctuations. Sawyer (1986) points out that this parameter could affect the organisms that leeches take for feeding.

Hirudinea are considered organisms with great physiological plasticity because they can survive under anoxia conditions for some days and under hyperoxia during long periods of time (Davies & Govedich, 2001). No statistically significant results were obtained for the correlation with dissolved oxygen. The measured values of dissolved oxygen did not show fluctuations during the year.

**Key words:** *Leeches, Glossiphoniidae, ecology.*

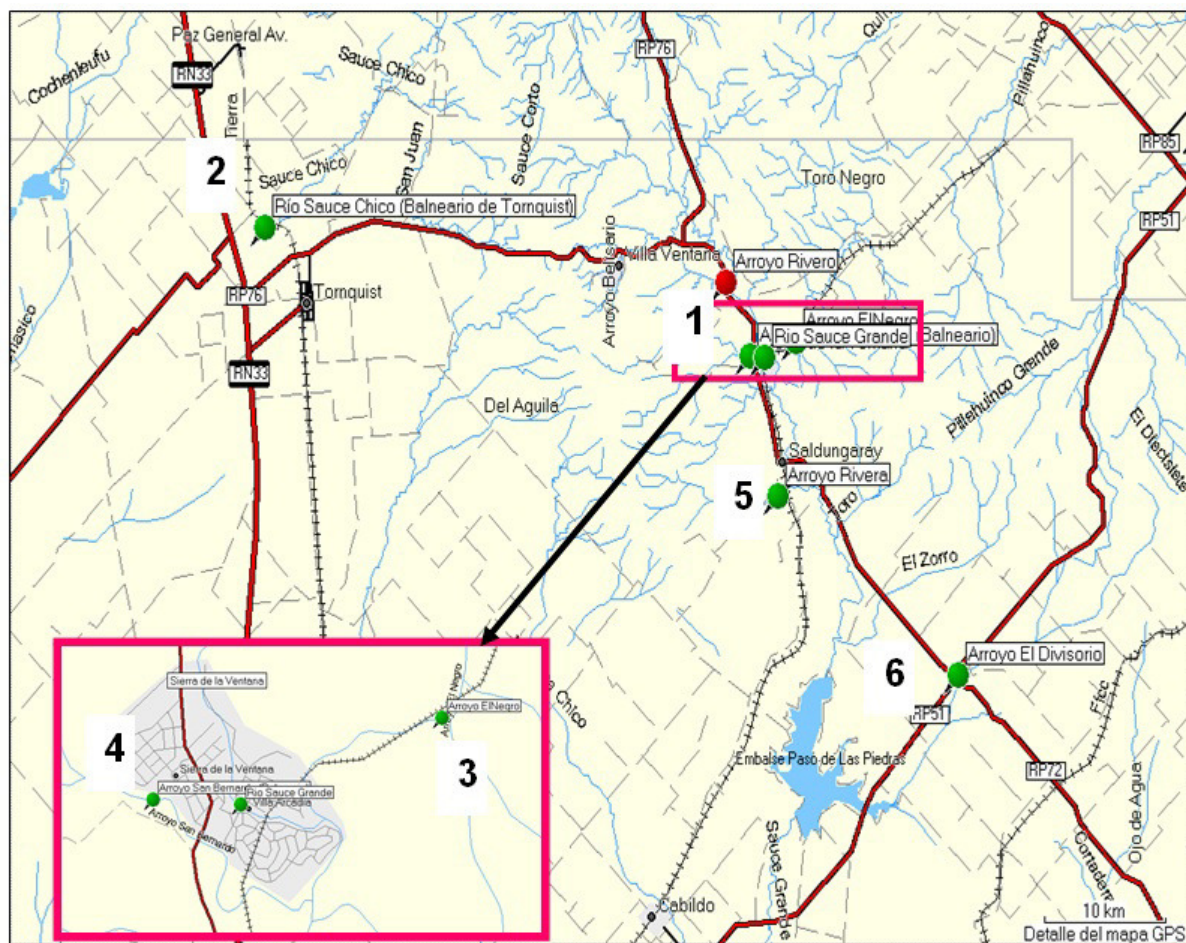
## Introducción

Los hirudíneos son importantes componentes del bentos de los ríos y arroyos que caracterizan el paisaje serrano y constituyen un taxón con un notable grado de endemismo para la Región Neotropical (Ringuelet, 1944; 1947; 1985; Christoffersen, 2009). A excepción de algunas especies cosmopolitas (Ringuelet, 1943) la inmensa mayoría tiene áreas de dispersión relativamente pequeñas. Como componentes de las tramas tróficas actúan como depredadores y como presas. Son hospedadores intermediarios en ciclos de vida de digeneos y cestodes y vectores de protozoos parásitos. Es bien conocido su uso medicinal así como su rol como bioindicadores (Sawyer, 1986). Por otra parte, numerosos son los aportes al conocimiento de este grupo, en particular el descubrimiento de especies nuevas (Siddall, *et al.*, 2001, 2004); Gullo, (2006, 2008), Kutchera *et al.*, (2013), la redescipción de otras a la luz de los análisis moleculares Mosser, *et al.*, 2012 a y b; 2013), la construcción de filogenias (Siddall, *et al.*, 2003, 2005) y los aportes sobre el conocimiento de la diversidad de hirudíneos a nivel mundial (Sket, 2008). A pesar de ser importantes componentes del bentos no es frecuente que se incluyan en los análisis sobre macroinvertebrados bentónicos ya que su identificación suele ser dificultosa en particular si el material no está procesado de forma adecuada. En Argentina los estudios de biodiversidad son escasos (Gullo, 1998; Gullo, 2007; César *et al.*, 2009) y no se registran antecedentes para ambientes dulceacuícolas serranos.

El objetivo del presente trabajo es identificar las especies de hirudíneos acuáticos presentes en el área, y analizar las relaciones entre ellas y las variables ambientales, para conocer sus preferencias en relación con el hábitat.

## Materiales y métodos

Los ejemplares fueron recolectados en muestreos estacionales realizados durante 2009, 2010 y 2011. Las estaciones de muestreo seleccionadas fueron: Ríos Sauce Grande (1) (Balneario Villa La Arcadia) coordenadas  $38^{\circ} 08' S$   $61^{\circ} 47' O$ , elevación 244m y Sauce Chico (2) (Balneario de Tornquist) coordenadas  $38^{\circ} 03' S$   $62^{\circ} 15' O$ , elevación 284m. Arroyos San Bernardo (3) coordenadas  $38^{\circ} 08' S$   $61^{\circ} 48' O$  elevación 267m, El Negro (4) coordenadas  $38^{\circ} 07' S$   $61^{\circ} 45' O$ , elevación 253m (Sierra de la Ventana), Rivera (5) coordenadas  $38^{\circ} 18' S$   $61^{\circ} 36' O$ , elevación 213m (Saldungaray) y El Divisorio (6) coordenadas  $38^{\circ} 20' S$   $61^{\circ} 47' O$ , elevación 263m (Paraje Frapal, Cnel. Pringles): (Fig. 1).



**Figura 1.** Estaciones de muestreo 1. Río Sauce Grande, 2. Río Sauce Chico, 3. Arroyo El Negro, 4. Arroyo San Bernardo, 5. Arroyo Rivera, 6. Arroyo El Divisorio.

En cada estación de muestreo se tomaron parámetros fisicoquímicos como temperatura ( $^{\circ}C$ ), pH, oxígeno disuelto (mg/l), saturación de oxígeno (%), conductividad (mS/cm) y total de sólidos disueltos (ppm).

Por tratarse de un ambiente de escasa profundidad se empleó una red Suber de  $0,09m^2$  y  $250\mu m$  de abertura de malla, obteniendo tres muestras por cada ambiente levantando las piedras contenidas en el área seleccionada y desprendiendo los ejemplares manualmente. Los hirudíneos se trasladaron vivos al laboratorio en recipientes plásticos con agua del lugar y fueron fijados en formaldehído al 5% por 24 horas y preservados en alcohol 70%.

Las relaciones entre las especies y variables ambientales fueron analizadas con Análisis Canónico de Correspondencia (ACC) considerando las siete especies más abundantes y cuatro variables ambientales. Se retiraron del análisis sólidos disueltos y % de saturación de oxígeno (factores de

inflación > 20) (Ter-Braak, 1986; Ter-Braak & Verdonschot, 1995, Kùlköylüođlu, 2003; César *et al.*, 2009 y 2012) y las especies con abundancia menor a 25 individuos.

La asociación entre las especies fue analizada empleando análisis de agrupamiento (UPGMA) y coeficiente de similitud de Jaccard (Crisci & López Armengol, 1983). Se empleó, asimismo, el coeficiente de correlación de Pearson y la prueba t-Student.

## Resultados

Diez especies de hirudíneos Glossiphoniidae fueron recolectadas en ambientes dulceacuícolas de Sierra de la Ventana: *Helobdella simplex* (Moore, 1911); *Helobdella brasiliensis* Weber, 1915; *Helobdella triserialis triserialis* (Blanchard, 1849), *Helobdella adiastrala* Ringuelet, 1972; *Helobdella hyalina* (Ringuelet, 1942); *Helobdella triserialis lineata* (Verrill, 1874), *Helobdella duplicata duplicata* (Moore, 1911); *Theromyzon propinquum* Ringuelet, 1947 y *Helobdella cordobensis* Ringuelet, 1943 (Tabla 1, Figs. 4 a 13). Esta última especie representa un nuevo registro para la provincia de Buenos Aires.

Las especies de mayor frecuencia y abundancia (más de 150 individuos) fueron *H simplex* (31,55% n=348), *H. triserialis s. st.* (30%, n=331) y *H. brasiliensis* (14,50%; n=160) mientras que *H. hyalina* (6,98%, n=77), *H. adiastrala* (5,25%, n=58), *H. cordobensis* (4,98% n=54), *H. lineata* (n=33, 2,99%), *H. duplicata* (2,17 n=24), *H. michaelsoni* (1,17% n=13) y *T. propinquum* (0,36% n=4) presentan menor frecuencia y un número menor de individuos.

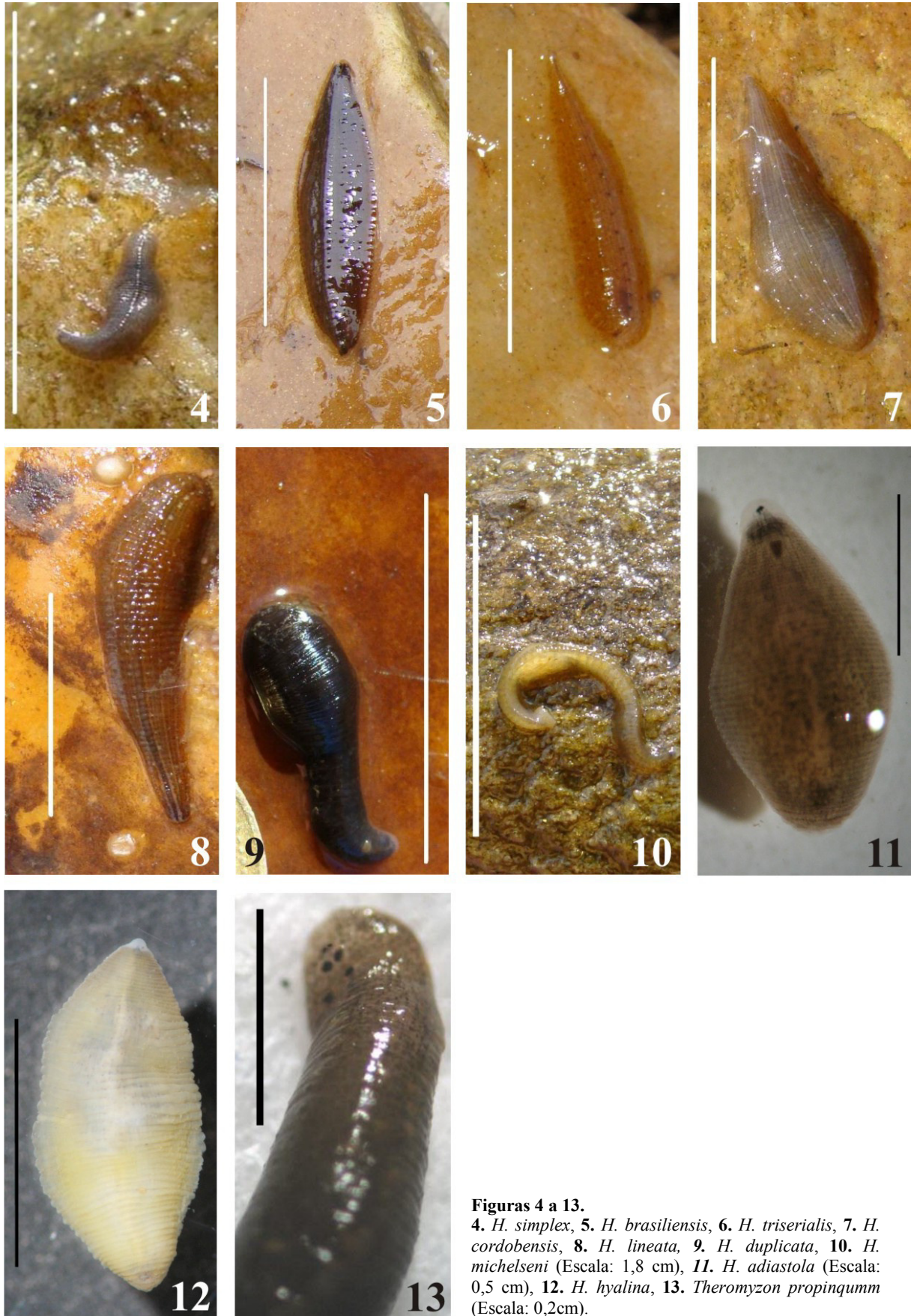
**Tabla 1:** Especies de hirudíneos recolectadas estacionalmente en Sierra de la Ventana durante tres años.

Especies	Abreviatura	Sitios	%
<i>H. simplex</i>	<i>H.simp*</i>	1,2,3,4,5,6	31,55
<i>H. triserialis s. st.</i>	<i>H.tris*</i>	1,2,3,4,5,6	30
<i>H. brasiliensis</i>	<i>H. bras*</i>	1,2,3,4,5,6	14,55
<i>H. hyalina</i>	<i>H. hy*</i>	1,2,3,4,5	6,98
<i>H. adiastrala</i>	<i>H.adias*</i>	2,3,4,5	5,25
<i>H. cordobensis</i>	<i>H cord*</i>	2,3,5,6	4,98
<i>H. triserialis lineata</i>	<i>H. lin*</i>	1,2,3,4,5,6	2,99
<i>H. duplicata duplicata</i>	<i>H.dupl</i>	2,4,5,6	2,17
<i>H. michaelsoni</i>	<i>H. mich</i>	3,4	1,17
<i>T. propinquum</i>	<i>T. prop</i>	4	0,36

Referencia: La frecuencia (%) indica el número total de especies empleando los datos de la tabla de presencia /ausencia. El asterisco (\*) indica las siete especies de mayor frecuencia que representan más del 95% del total.

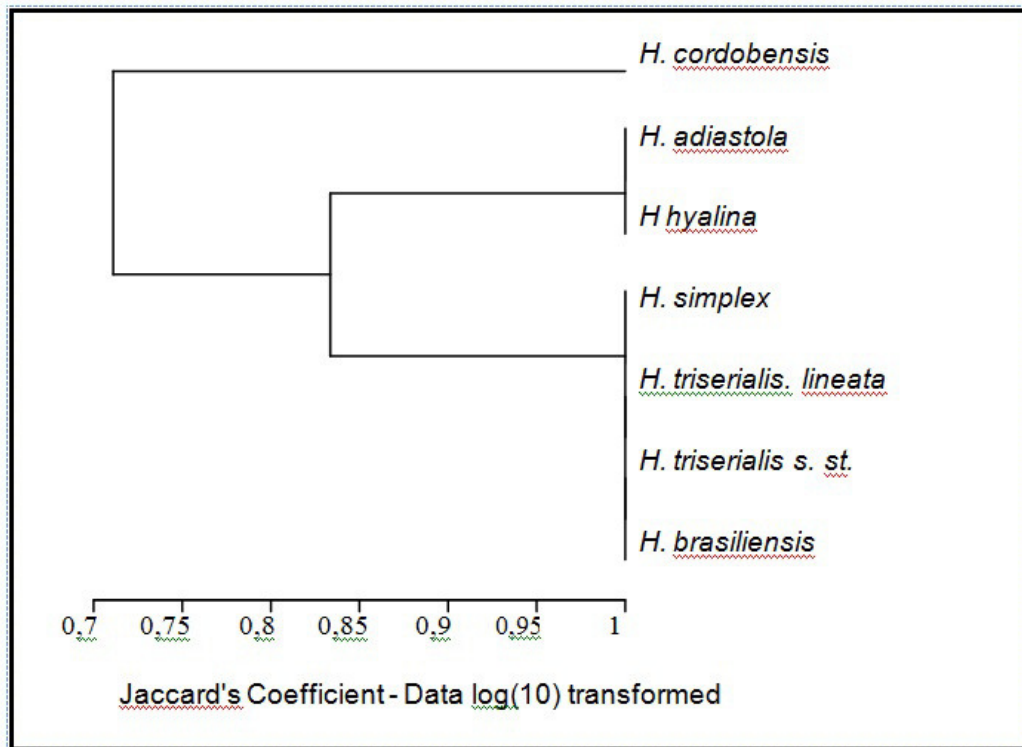
El dendrograma de similitud (Figura 2) basado en la tabla de presencia/ausencia muestra dos grupos principales. El primer grupo conformado por seis especies *H. brasiliensis*, *H. triserialis s. st.*, *H. triserialis lineata* y *H. simplex*, *H. hyalina* y *H. adiastrala* (J=0,83) y el segundo grupo constituido por una especie *H. cordobensis* (J=0,71).

Los resultados del ACC (Figura 3) sugirieron que la distribución de las especies está relacionada con las variables físico-químicas del agua. La longitud del vector es proporcional a la importancia de la variable. El 99,1% de la correlación entre las especies y variables se distribuye en el eje 1 del diagrama de ordenamiento. *H. simplex*, *H. triserialis s.st.*, *H. triserialis lineata*, *H. brasiliensis* y *H. hyalina* se hallan próximas al centro del diagrama de ordenamiento debido a su mayor rango de tolerancia a las variables físicoquímicas. *H. cordobensis* y *H. adiastrala* se ubican más alejadas del centro del diagrama ya que muestra una fuerte correlación negativa con el pH y *H. adiastrala* con la temperatura del agua.

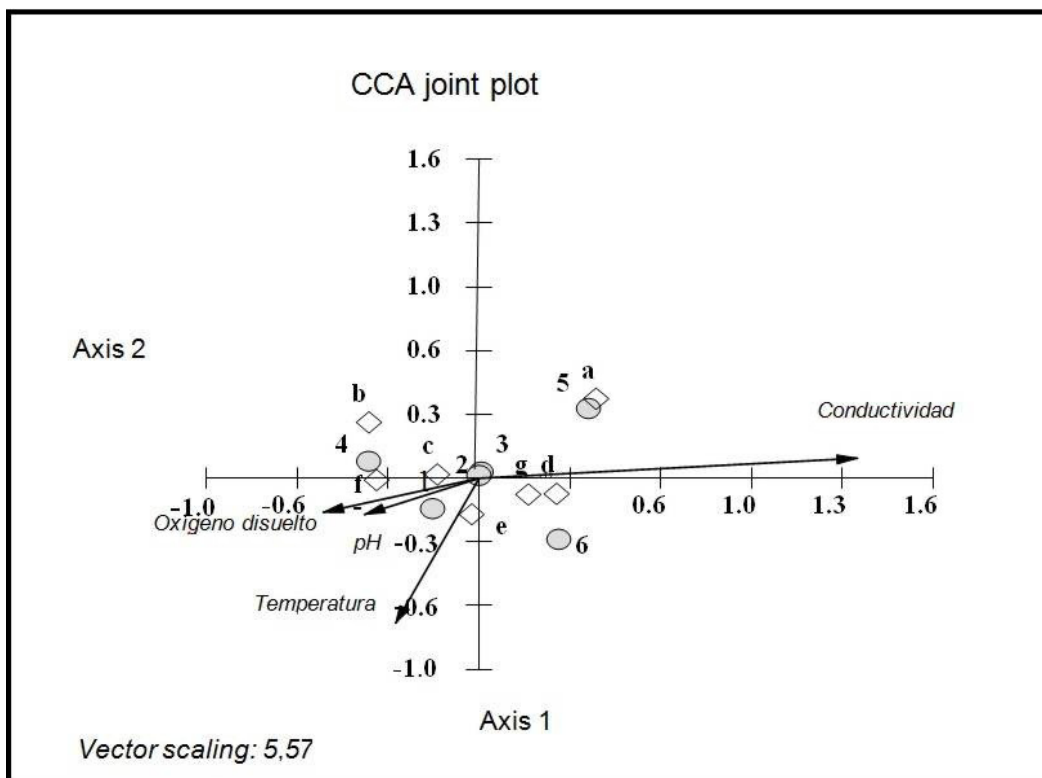


**Figuras 4 a 13.**

4. *H. simplex*, 5. *H. brasiliensis*, 6. *H. triserialis*, 7. *H. cordobensis*, 8. *H. lineata*, 9. *H. duplicata*, 10. *H. michelseni* (Escala: 1,8 cm), 11. *H. adiaistola* (Escala: 0,5 cm), 12. *H. hyalina*, 13. *Theromyzon propinquum* (Escala: 0,2cm).



**Figura 2.** El dendrograma de similitud construido con los datos de presencia /ausencia muestra los resultados del UPGMA para las siete especies más frecuentes.



**Figura 3.** El diagrama del análisis canónico de correspondencia muestra las seis estaciones de muestreo (1, 2, 3, 4, 5, 6 ver Fig. 1), y las relaciones entre siete especies: a. *H. cordobensis*.; b. *H. adiastrata*; c. *H. brasiliensis*; d. *H. triserialis s. st.*; e. *H. simplex*.; f. *H. hyalina*; g. *H. triserialis lineata* y cuatro variables ambientales.

**Tabla 2:** Principales resultados del CCA.

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
Valor "eigen"	0,070	0,032	0,019
Porcentaje	48,046	21,727	13,377
Porcentaje acumulado	48,046	69,773	83,150
Porcentaje acumulado constr.	3,900	4,698	5,000
Correlación especies y variables ambientales	0,991	0,897	0,983

Nótese que, aproximadamente el 99 % de las correlaciones entre las cuatro variables seleccionadas y las siete especies más frecuentes, fue explicado por el eje 1 del diagrama de ordenamiento.

La correlación de *H. adistola*, *H. cordobensis* y *H. brasiliensis* con el pH es estadísticamente significativa ( $r=0,44$   $p<0,05$ ;  $r=-0,80$   $p<0,01$ ;  $r=0,30$   $p<0,05$  respectivamente). Por otra parte, la correlación de *H. adistola* y *H. brasiliensis* con la temperatura es estadísticamente significativa ( $r=-0,77$  y  $r=-0,90$   $p<0,01$ ). La riqueza específica disminuye con el aumento de la temperatura del agua ( $r=-0,79$   $p<0,01$ ). (Tabla 3).

**Tabla 3:** Matriz de correlación de Pearson entre las cuatro variables ambientales y las siete especies más abundantes. Los números indican fuerte correlación (\* $p<0,05$ ; \*\* $p<0,01$ ).

	T°C	pH	OD mg/l	C ms/cm	S	H. cord.	H. adias.	H. bras.	H. tris. s. st.	H. simpl.	H. tris. lin.	H. hya.
T°C	1											
pH	-3,34	1										
OD mg/l	-0,35**	-0,282	1									
C ms/cm	0,301	0,157	-0,172	1								
S	-0,79**	0,438	0,411	-0,154	1							
H. cord.	0,183	-0,80*	0,290	-0,196	0,030	1						
H. adias.	-0,90**	0,447*	0,174	-0,488	0,577	-0,425	1					
H. bras.	-0,77**	0,309*	0,219	-0,653	0,382	-0,406	0,952**	1				
H. tris. s.st.	0,149	0,121	0,139	0,915	-0,123	-0,297	-0,314	-0,428	1			
H. simpl.	0,033	0,295	0,600	-0,024	0,334	-0,130	-0,065	-0,019	0,142	1		
H. t. lin.	-0,074	0,195	0,012	0,849	-0,074	-0,416	-0,057	-0,201	0,935	-0,11	1	
H. hya.	-0,162	-0,269	0,274	-0,827	-0,205	-0,036	0,432	0,682	-0,588	0,025	-0,519	1

### Discusión y conclusiones

La fauna de hirudíneos de la Comarca de Sierra de la Ventana no difiere de las especies halladas en otros ambientes lénticos y lóticos de la provincia de Buenos Aires (Gullo, 1991; Darrigran *et al.*, 1998; Gullo, 2007; César *et al.*, 2009). Sin embargo, *Helobdella cordobensis* hallada sólo en las Sierras de Córdoba (Ringuelet, 1985) se registró por primera en ambientes dulceacuícolas serranos de la provincia de Buenos Aires (Sierras de la Ventana).



Los hirudíneos tienen su máxima concentración en la vegetación sumergida y son escasos a grandes profundidades debido a la falta de vegetación, sustratos adecuados y nutrientes. Existen varios factores que limitan el número y especies de sanguijuelas halladas en un ambiente. En orden de importancia son: disponibilidad de nutrientes, naturaleza del sustrato, profundidad del agua, corriente (lótico/léntico), tamaño y naturaleza del cuerpo de agua, dureza, pH, temperatura, mínima concentración de oxígeno disuelto, turbidez y salinidad: (Sawyer, 1986). En Sierra de la Ventana las condiciones particulares de cada ambiente (sustrato, disponibilidad de nutrientes, profundidad del agua, corriente, oxígeno disuelto) junto con la gran plasticidad fisiológica que poseen los hirudíneos permiten el establecimiento de poblaciones de distintas especies. El análisis de agrupamiento mostró la asociación entre *H. triserialis s. st.*, *H. simplex*, *H. brasiliensis* y *H. triserialis lineata*, *H. hyalina* y *H. adistola* siendo las tres primeras las especies de mayor frecuencia y abundancia de individuos en los sitios relevados. Cabe señalar que *H. triserialis triserialis*, *H. simplex* y *H. hyalina* fueron las especies de mayor abundancia y frecuencia registradas por César *et al.* (2009) en la Isla Martín García.

Luego de analizar las relaciones entre las especies y variables ambientales se puede concluir que *H. simplex*, *H. triserialis s. st.*, *H. triserialis lineata*, *H. brasiliensis* y *H. hyalina*, tienen un amplio rango de tolerancia a las fluctuaciones de los parámetros ambientales por lo que se ubicaron cerca del centro del diagrama del ACC. No se obtuvieron resultados estadísticamente significativos para la correlación de *H. simplex* con el pH y de *H. hyalina* con la conductividad. En tal sentido los resultados obtenidos aquí difieren con los obtenidos por César *et al.* (2009). Por otra parte, *H. adistola* y *H. cordobensis*, de menor frecuencia y abundancia, resultaron más sensibles a las variaciones de pH. Sawyer (1986), señala que este parámetro ejerce escasa influencia directa sobre la abundancia y distribución de los hirudíneos pero podría afectar a los organismos que emplean como alimento. Estas especies probablemente no sean generalistas con respecto a su dieta lo cual podría explicar su abundancia menor. La correlación negativa con la temperatura observada en *H. adistola* y *H. brasiliensis* puede explicar la menor frecuencia y abundancia de estas especies durante los meses de verano.

Davies & Govedich (2001), han demostrando que los hirudíneos son organismos de una gran plasticidad fisiológica ya que pueden sobrevivir en condiciones de anoxia por varios días y de hiperoxia por largos períodos de tiempo. La correlación de las especies analizadas con el oxígeno disuelto no fue estadísticamente significativa. Los valores de oxígeno no mostraron variaciones a lo largo del año manteniéndose dentro de los límites de tolerancia que permiten la supervivencia de los organismos acuáticos.

### Agradecimientos

Quiero expresar mi agradecimiento al Prof. Ing. Christopher Young por sus valiosas sugerencias de redacción en el título y resumen expandido en inglés.

### Bibliografía

- César, I. I., Martín, S.M., Gullo, B. S. & Liberto R. 2009. Biodiversity and ecology of Hirudinea (Annelida) from the Natural Reserve of Isla Martín García, Río de la Plata, Argentina. *Brazilian Journal of Biology* 69(4): 1107-1113.
- César, I. I., Martín, S. M., Rumi, A., & Tassara, M. 2012. Mollusks (Gastropoda and Bivalvia) of the Multiple-Use Reserve Martín García Island, Río de la Plata River: biodiversity and ecology. *Brazilian Journal of Biology* 72 (1): 121-130
- Christoffersen, M. L. 2009. A catalogue of Helobdella (Annelida, Clitellata, Hirudinea, Glossiphoniidae), with a summary of leech Diversity from South America. *Neotropical Biology and Conservation* 4(2):89-98.

- Crisci, J.V. & López Armengol, MF. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica, Secretaría. General de la Organización de Estados Americanos (O.E.A). *Monografías Científicas, Serie Biología*, 26: 1-132.
- Darrigrán, G., Martín, SM., Gullo, B.S. & Armendáriz, LC. 1998. Macroinvertebrates associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Río de la Plata, Argentina. *Hydrobiologia* 367: 223-230.
- Davies, R.W. & Govedich, A.P., 2001. Annelida: Euhirudinea and Acanthobdellidae. In Thorp, JH. and Covich, AP. (eds.) *Ecology and classification of North American Freshwater Invertebrates*, pp. 465-504. Academic Press, San Diego, California.
- Gullo, B.S. & Darrigrán, G., 1991. Distribución de la fauna de hirudíneos litorales del estuario del Río de la Plata, República Argentina. *Biología Acuática* 15(2): 216-217.
- Gullo, B.S. 1998. Hirudíneos Glossiphoniidae asociados a Lemnaceas, en los Talas (Partido de Berisso), Buenos Aires. *Neotropica* 44:65-68.
- Gullo, B.S. 2007. Hirudíneos asociados a hidrófitas en la Laguna Los Patos, Buenos Aires, Argentina. *Revista Museo La Plata, Zoología* 18 (172): 11-18.
- Külköylüoğlu, O., 2003. Ecology of freshwater Ostracoda (Crustacea) from Lakes and Reservoirs in Bolu, Turkey. *Journal Freshwater Ecology* 18 (3): 343-347.
- Kutschera, U., Langguth, H., Kuo, D.H., Weisblat, D. A. & Shankland, M. 2013. Description of a new leech species from North America, *Helobdella austinensis* n. sp. (Hirudinea:Glossiphoniidae), with observations on its feeding behaviour. *Zoosyst. Evol.* 89: 239-246.
- Mosser, W.E., Richardson D.J , Hammond, CH & Lazo-Wasem, E. 2012 Redescription of *Placobdella ornata* (Verrill, 1872) (Hirudinida: Glossiphoniidae). *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History* 53(1): 325–330.
- Mosser, W.E., Richardson D.J; Hammond, C.H; Govedich, F.R. & Lazo-Wasem, E 2012. Resurrection and Redescription of *Placobdella rugosa* (Verrill, 1874) (Hirudinida: Glossiphoniidae) *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History* 53(2):375-381.
- Mosser, Willian E, Steven V. Fend, Dennis Richardson, Charlotte I. Hammond, Eric A. Lazo-Wasem, Frederic R. Govedich & Bettina S. Gullo. 2013. A new species of *Helobdella* (Hirudinida: Glossiphoniidae) from Oregon, USA. *Zootaxa* 3718 (3): 287–294.
- Ringuelet, R. 1944. Revisión de los Hirudíneos argentinos de los géneros *Helobdella*, *Batracobdella*, *Cylicobdella* y *Semiscolex*. *Revista del Museo de La Plata Nueva Serie. Zoología* 4: 5-94.
- Ringuelet, R. 1947. *Theromyzon propinquum* nov. sp. de la Argentina. *Notas Museo de la Plata Zoología* 12(103):217-222.
- Ringuelet, R., 1985. Annulata. Hirudinea. En Castellanos, Z. (ed.). *Fauna de agua dulce de la República Argentina* 27 (1): 1: 321.
- Siddall, M. 2001a. Leeches of Laguna Volcán, Bolivia, including a new species of *Helobdella* (Clitellata: Hirudinea). *American Museum Novitates* 3313: 1-11.
- Siddall, M. 2001b. Hirudinea from the Apolobamba in Bolivian Andes, including three new species of *Helobdella* (Clitellata: Hirudinea). *American Museum Novitates* 3341: 1-14.
- Siddall, A & Borda, E. 2003. Phylogeny and revision of the leech genus *Helobdella* (Glossiphoniidae) based on mitochondrial gene sequence and morphological data and a special consideration of the triserialis complex. *Zoologica Scripta* 32 (1): 23-33.
- Siddall, M & Borda, E. 2004. Leech collections from Chile including two new species of *Helobdella* (Annelida: Hirudinida). *American Museum Novitates* 3457: 1-18.

- Siddall, M, Budinoff, R.L. & Borda, E. 2005. Phylogenetic evaluation of systematic and biogeography of the leech family Glossiphoniidae. *Invertebrate Systematics* 19: 105-112.
- Sket, B & P. Trontelj, P. 2008. Global Diversity of leech. *Hydrobiologia* 595:129-137.
- Sawyer, RT., 1986. Leech biology and behaviour. *Feeding, Biology, Ecology and Systematics*. Vol 1-3. pp. 419-793. Oxford University Press, New York.
- Ter-Braak, C.J.F., 1986. Canonical Correspondence Analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67(5): 1167-1179.
- Ter-Braak, C.J.F. & Verdonshot, P.F.M. 1995. Cannonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences*, 57(3): 255-289.

**Recibido: octubre 2013**

**Aceptado: marzo 2014**