

Análisis de estimadores no paramétricos en la diversidad de digeneos larvales en *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)

Analysis of nonparametric estimators in the diversity of larval digeneans in *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)

Merlo Matías Javier

RESUMEN: Los estimadores no paramétricos de la riqueza de especies son algunos de los métodos utilizados en el estudio de la biodiversidad. Sin embargo, las comunidades o ensambles de parásitos han recibido poca atención en ese sentido. Por lo tanto, en el presente estudio, se utilizaron datos reales de diversidad estacional de digeneos en el primer hospedador intermediario *Heleobia parchappii* de la laguna Nahuel Rucá (Argentina) para evaluar siete estimadores no paramétricos de riqueza específica. Se analizó su comportamiento y su capacidad para estimar la riqueza de especies utilizando diferentes tamaños de submuestra. Además, se estimó el tamaño mínimo de muestra necesario para incluir todas las especies observadas. Los estimadores Chao 1, Chao 2 y Bootstrap fueron en general los que mejor desempeño tuvieron considerando los criterios de evaluación utilizados. Considerando que la estructura de los ensambles de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario tiene una gran importancia en el cálculo de los estimadores no paramétricos, se propone la utilización de Chao 1 y 2 cuando la proporción de especies raras es mayor al 30%, mientras que, si es menor a este valor se recomienda usar Bootstrap. Además, se sugiere aumentar el número de hospedadores tradicionalmente examinados de 300 a 400 individuos, para poder obtener una medida más precisa de la biodiversidad en estos sistemas.

Palabras clave: biodiversidad, trematodes, laguna pampeana

ABSTRACT: Non-parametric estimators of species richness are some of the extrapolation methods used in the study of biodiversity. However, communities or assemblages of parasites have received little attention. Therefore, in the present study, real data on the seasonal diversity of digeneans in the first intermediate host *Heleobia parchappii* at Nahuel Rucá shallow lake (Argentina) were used to evaluate seven non-parametric estimators of species richness, analyzing their behavior and their ability to estimate richness using different subsample sizes. In addition, the minimum sample size necessary to include all observed species was estimated. The Chao 1, Chao 2 and Bootstrap estimators were generally the best-performing estimators considering the evaluation criteria used. Given the significant role of larval digenean assemblages in the first intermediate host for non-parametric estimator calculations, it is suggested to employ Chao 1 and 2 when the proportion of rare species exceeds 30%. However, if this proportion is less than 30%, the use of Bootstrap is recommended. Furthermore, to obtain a more precise measure of biodiversity in these systems, it is suggested to increase the traditionally examined host number from 300 to 400 individuals.

Keywords: biodiversity, trematodes, pampean shallow lake

INTRODUCCIÓN

La riqueza específica es la forma más sencilla de describir la diversidad de especies o cuantificar el número de especies a una escala local (Mac Nally y Fleishman, 2002; Magurran, 2004). Sin embargo, Gibson *et al.* (2001) y Fleishman *et al.* (2006) consideran que el cálculo de la riqueza específica está influenciado directamente por el esfuerzo de muestreo y, por lo tanto, los estudios que no posean esfuerzos de muestreo similares no serían

comparables. Así, se plantea el interrogante sobre cuán bien es reflejada la “verdadera” diversidad de especies presentes en una comunidad por una muestra de la misma (Hughes *et al.*, 2001).

En respuesta a esta pregunta, en la última década se generaron grandes avances en la comparación y unificación de las distintas métricas de diversidad, así como en el desarrollo de métodos para estandarizar las muestras antes de medir la biodiversidad (Chao y Chiu, 2016; Cox *et al.*, 2017; Chao *et al.*, 2019,

Laboratorio de Ictioparasitología, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Funes 3350, (7600) Mar del Plata, Argentina

Correspondencia: mjmerlo@mdp.edu.ar - ARK CAYCIT: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s23139862/jwksk58it>

13

2020). Estas técnicas se pueden agrupar en tres clases: (1) las extrapolaciones de las curvas de acumulación de especies, (2) modelos paramétricos, y (3) estimadores no paramétricos (Magurran, 2004).

El método de extrapolación usa la curva de acumulación de especies observadas para modelar el conteo de nuevas especies con respecto al esfuerzo de muestreo, y el valor de la riqueza es la asíntota de la curva (e.g. modelos de Clench o de Dependencia Lineal) (Palmer, 1990; Soberón y Llorente, 1993). Una desventaja de utilizar extrapolaciones es que se requieren datos provenientes de comunidades suficientemente muestreadas para la predicción del valor asíntótico (Hughes et al., 2001). La estimación mediante modelos paramétricos consiste en ajustar los datos de abundancia relativa de las especies en una muestra, a un modelo matemático como la serie logarítmica o la distribución log-normal (ver revisión en Moreno, 2000). Algunos impedimentos para usar estos métodos paramétricos es que se requieren datos de abundancia relativa de las especies y que se deben hacer suposiciones sobre la verdadera distribución de abundancias en una comunidad (Hughes et al., 2001). Por el contrario, los estimadores no paramétricos utilizan datos de presencia-ausencia o de abundancia de especies y se enfocan en las especies poco abundantes o raras (Colwell y Coddington, 1994; Moreno, 2000). Además, los estimadores no paramétricos presentan dos cualidades importantes: pueden controlar el efecto de un esfuerzo de muestreo desigual y, además, pueden calcular el número de especies "raras" existentes en una muestra y añadir este número a la riqueza de especies observada (Poulin, 1998).

Los estimadores no paramétricos que se han desarrollado son Bootstrap, Jackknife, Chao, ACE, ICE y fueron revisados por Colwell y Coddington (1994) y Chazdon et al. (1998). Al utilizar un estimador no paramétrico se debe evaluar su comportamiento ya que su eficacia puede ser diferente según la riqueza y complejidad del sistema, la proporción del área muestreada y el método de muestreo empleado. Por lo tanto, se han propuesto varios criterios para seleccionar un estimador. Por ejemplo, un buen estimador debe ser insensible al tamaño de muestra, es decir, su curva de acumulación de especies debe tener una tasa de crecimiento inicial alta hasta llegar a una riqueza máxima y a la asíntota; también debe ser insensible al orden de muestreo y a la distribución espacial de las especies (Chazdon et al., 1998; Gotelli y Colwell, 2001). Además, el estimador debe ser eficaz en términos de sesgo (poco sesgado), exactitud y precisión (valor de estimación cercano al valor de la riqueza verdadera) (Palmer, 1990; Chiarucci et al., 2003).

La abundancia de parásitos en una muestra puede estar estrechamente vinculada a factores como el tamaño y la densidad de los hospedadores, así como su distribución geográfica (Walther et al., 1995). Por lo tanto, las pruebas no paramétricas podrían proporcionar una visión más profunda sobre la composición de especies en una comunidad específica, particularmente si el número de hospedadores examinados es limitado o insuficiente, dado que solo las especies con altas prevalencias estarían representadas (Poulin, 1998). Entre las potenciales aplicaciones de los estimadores de riqueza específica se encuentra la capacidad de determinar el tamaño de muestra necesario para obtener una representación sustancial de las especies que componen una comunidad dada. El tamaño mínimo de la muestra requerido por métodos tradicionales puede ser demasiado grande, generando dificultades para el desarrollo de estudios en áreas protegidas con regulaciones estrictas en cuanto a colecta de animales y vegetales, afectando directamente al número de hospedadores que pueden ser muestreados. Así, el uso de los estimadores no paramétricos para el cálculo de la muestra mínima podría permitir una mejor planificación de las tareas de muestreo, contribuir con la conservación del ambiente y reducir costos económicos y de tiempo (tanto en el campo como en el procesamiento de las muestras) para llevar a cabo estudios parasitológicos en zonas con algún tipo de control o de protección.

En la laguna Nahuel Rucá, incluida en el Parque Atlántico Mar Chiquito (Reserva MAB de la UNESCO), habita la especie de gasterópodo *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835) (Cochliopidae) en la cual se registró un máximo de 23 tipos morfológicos de digeneos larvales (Campanini et al., 2022). Los ensamblajes de digeneos larvales en su primer hospedador intermediario (generalmente moluscos) se caracterizan por presentar variaciones temporales y espaciales de la prevalencia y de la riqueza específica (Parietti et al., 2021; Campanini et al., 2022). Entre los factores que pueden regular esta variabilidad se pueden mencionar las condiciones abióticas (temperatura del agua y del aire, altura de la columna del agua, salinidad, etc.), la biología de los hospedadores intermediarios (uso del hábitat, densidad, duración del ciclo de vida, etc.), la biología del hospedador definitivo (diversidad y abundancia, comportamiento, etc.) y las interacciones interespecíficas entre las larvas de digeneos. Sobre estos temas puede consultarse a Paull et al. (2018), Galaktionov et al. (2019), Duan et al. (2021) y Díaz-Morales et al. (2022), entre otros.

Dada esta variación en la prevalencia y la riqueza específica de los ensamblajes de digeneos larvales, el objetivo del presente estudio fue evaluar el

rendimiento (considerando el sesgo, la precisión y la exactitud) de los métodos no paramétricos (NP) para estimar la riqueza específica de digeneos larvales de *H. parchappii*, analizar si los inventarios de diversidad de este grupo están completos, y plantear posibles estrategias en el diseño de futuros muestreos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron datos de un estudio parasitológico que estudió la dinámica temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en 3600 ejemplares (900 por estación) de *H. parchappii* en la laguna Nahuel Rucá (37° 37' S - 57° 25' O) (Merlo, 2014). Los muestreos se realizaron de forma estacional desde el invierno de 2010 hasta el otoño de 2011, la metodología de colecta de los moluscos y la caracterización morfológica de los estadios larvales se encuentran detalladas en Merlo (2014). La laguna Nahuel Rucá cuenta con un afluente (Arroyo Dulce) y desemboca mediante un canal artificial en el Arroyo Sotelo (efluente) y éste, a su vez, desemboca en el cuerpo de agua principal de la laguna costera Mar Chiquita. El espejo de agua presenta un área de 245 ha, una profundidad media de 0,14 ± 0,16 m y una profundidad máxima de 0,8 m (Federman, 2003). En cuanto a la vegetación, se caracteriza por la presencia de juncuales (*Schoenoplectus californicus* (CA Meyer) en sus márgenes, los cuales son utilizados como áreas de cría y descanso de un gran número de especies de aves locales y migratorias (Ferrero, 2001).

Análisis de los datos

Los datos de cada tipo morfológico de cercaria fueron agrupados en una matriz para cada una de las estaciones. Posteriormente, se utilizó el programa "EstimateS" Ver. 9.1 (Colwell, 2009) para calcular la curva de acumulación media de especies para cada conjunto de datos. Este programa calcula los estimadores no paramétricos realizando submuestreos, lo cual consiste en tomar "n" veces (réplicas) 1, 2, ... 900 caracoles (valor máximo de caracoles estudiados por estación) y cuantificar cuántas especies de digeneos están presentes en cada una de esas réplicas.

Para cada esfuerzo de muestreo en cada una de las matrices de datos, se generaron 100 réplicas y se calculó: a) el número de especies observadas (S_{obs}), que es equivalente a la curva de acumulación de especies; b) siete estimadores no paramétricos de riqueza específica (Chao 1, Chao 2, Jack 1, Jack 2, Bootstrap (Boot), ACE e ICE) y, c) número de especies promedio que estuvieron presentes una o dos veces y las especies raras totales (calculada como la suma de las especies que aparecieron una y dos veces) en las 100 réplicas. Para una descripción detallada de estos estimadores, ver Colwell (2009).

En la evaluación del desempeño de los estimadores no paramétricos de riqueza específica se utilizaron tres indicadores: Sesgo, Precisión y Exactitud (Foggo et al., 2003; Walther y Moore, 2005; Schoeman et al., 2008). El Sesgo refleja y cuantifica la tendencia que posee un estimador a sobreestimar o subestimar sistemáticamente la "verdadera" riqueza de especies. En otras palabras, si se extraen de una población un gran número de muestras (aleatoriamente, pero con el mismo diseño de muestreo) del mismo tamaño (igual número de unidades de muestreo en cada uno) y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada uno de estos muestreos, lo que se pregunta este indicador es: ¿cuán cerca del "verdadero" valor de riqueza específica va a estar la media de las estimaciones de la riqueza específica realizadas? (Schoeman et al., 2008). Esto se calcula de la siguiente forma:

$$Sesgo = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - S_{Real})$$

S_{Real} es el número total de especies observadas y S_i ($i=1, 2, \dots, n$) representa la riqueza específica promedio (obtenida de las 100 réplicas) para cada esfuerzo de muestreo. La unidad final en la cual se expresa el sesgo es número de especies.

La Precisión se utiliza para cuantificar la varianza de los resultados estimados. Esta responde a la pregunta: si muchas muestras del mismo tamaño fueron extraídas de la población (al azar, pero usando el mismo diseño de la muestra), y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada una, ¿cuán cerca están estas estimaciones entre sí? (Schoeman et al., 2008). Se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$Precisión = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - \bar{S})^2$$

\bar{S} es el promedio de la riqueza específica estimada para todos los esfuerzos de muestreo y su unidad es número de especies². Esta fórmula depende solo de los valores estimados y no utiliza en ningún momento los valores "verdaderos" de especies observadas, por lo que la precisión por sí sola no puede ser utilizada para evaluar a un estimador (Walther y Moore, 2005).

La Exactitud cuantifica la previsibilidad general de la riqueza calculada por los diferentes estimadores. La pregunta que responde es: si se extraen muchas muestras del mismo tamaño de una población (al azar, pero utilizando el mismo diseño de muestreo), y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada uno, ¿cuán cerca están todas estas estimaciones del verdadero valor de la riqueza de especies? La unidad de la exactitud es número de especies².

$$Exactitud = Precisión + Sesgo^2$$

Walther y Moore (2005) argumentan que no es válido comparar comunidades con distintas cantidades de especies utilizando el Sesgo, la Precisión y la Exactitud como métricas de rendimiento de los estimadores no paramétricos de riqueza específica, dado que el valor de estas métricas depende directamente del número de especies presentes en la comunidad analizada. Estos autores realizaron las siguientes formulaciones de sesgo, precisión y exactitud para estandarizar las medidas, permitiendo la comparación entre sitios. El Sesgo Estándar y la Precisión estándar no presentan unidad y la Exactitud Estándar es expresada como porcentaje.

$$Sesgo\ Est\acute{a}ndar = \frac{1}{n \cdot S_{Real}} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - S_{Real})$$

$$Precisi\acute{o}n\ Est\acute{a}ndar = \frac{100 \cdot \sqrt{Precisi\acute{o}n}}{\bar{S}}$$

$$Exactitud\ Est\acute{a}ndar = \frac{Exactitud}{S_{Real}^2}$$

Considerando que la curva de acumulaci3n de especies crece inicialmente de forma r1pida y luego, el incremento en el n1mero de especies disminuye a medida que se aumenta el esfuerzo de muestreo, los indicadores (Sesgo, Precisi3n y Exactitud Est1ndar) fueron calculados a partir de un tama1o submuestreal de 90 caracoles (10% de la muestra), dado que en ese punto la pendiente de la curva de acumulaci3n comienza a suavizarse, haciendo m1s exactos los c1lculos.

Adem1s, para evaluar los estimadores de riqueza espec1fica se utilizaron tres criterios propuestos por Melo y Froehlich (2001): (1) la menor muestra m1nima necesaria para estimar la riqueza observada en la muestra total; (2) la falta de comportamiento err1tico en la forma de la curva (la curva ideal deber1a ir aumentando el n1mero de especies a medida que aumenta el esfuerzo de muestreo hasta alcanzar un nivel asint3tico, el cual refleja que se alcanz3 el m1ximo de la riqueza) y (3) la similitud entre las formas de las curvas para las cuatro matrices de datos.

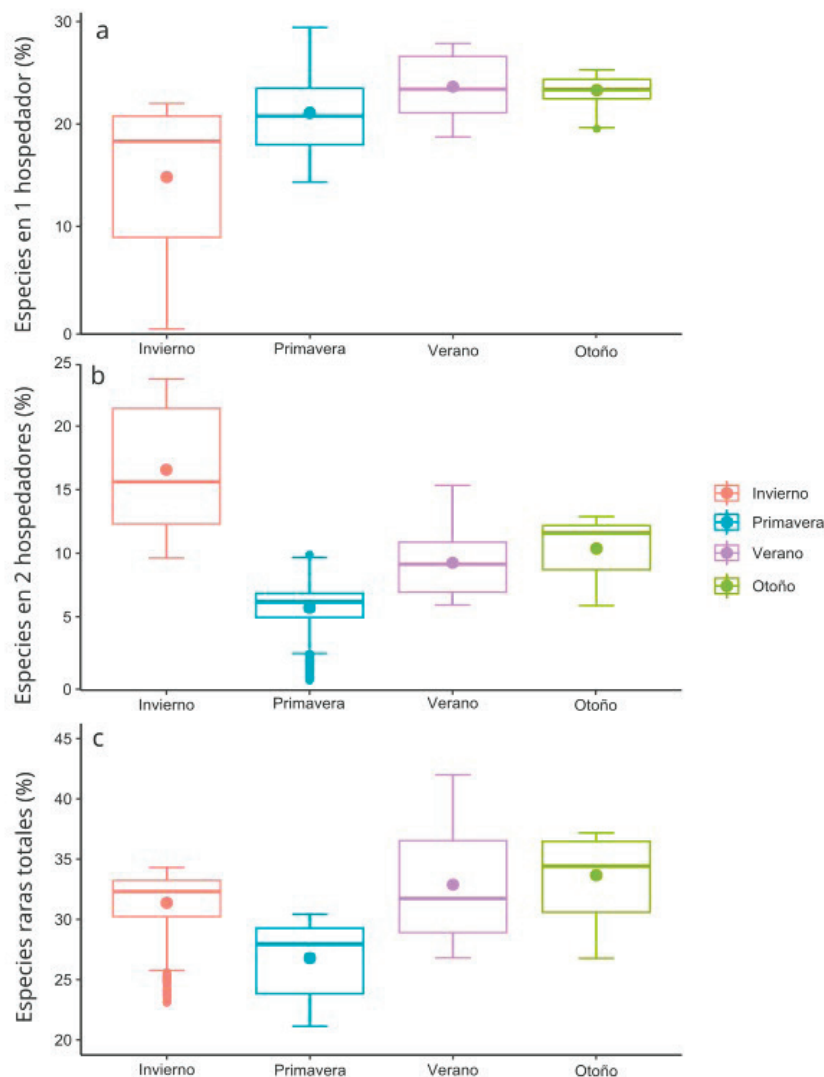


Figura 1. Variaci3n temporal del porcentaje de especies raras presentes en uno (a) o dos hospedadores (b) y especies raras totales (especies en un hospedador + especies en dos hospedadores) (c). Las cajas representan la mediana, cuartiles, m1nimos y m1ximos. El punto representa la media en cada estaci3n.

Tabla 1. Número de especies estimadas y porcentaje de sobreestimación en relación al número de especies observadas (N° Esp Obs) por los estimadores no paramétricos en cada estación.

| Estaciones | | Estimadores | | | | | | | N° Esp Obs |
|------------|-----------------------|-------------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|------------|
| | | ACE | ICE | Chao 1 | Chao 2 | Jack 1 | Jack 2 | Boot | |
| Invierno | N° especies estimadas | 14,52 | 14,39 | 13,47 | 13,48 | 15,47 | 15,47 | 13,85 | 13 |
| | % de sobreestimación | 11,69 | 10,69 | 3,62 | 3,69 | 19,00 | 19,00 | 6,54 | |
| Primavera | N° especies estimadas | 25,26 | 24,88 | 27,28 | 27,29 | 26,99 | 26,99 | 18,95 | 17 |
| | % de sobreestimación | 48,59 | 46,35 | 60,47 | 60,53 | 58,76 | 58,76 | 11,47 | |
| Verano | N° especies estimadas | 19,60 | 19,35 | 18,77 | 18,78 | 19,45 | 19,45 | 16,37 | 15 |
| | % de sobreestimación | 30,67 | 29,00 | 25,13 | 25,20 | 29,67 | 29,67 | 9,13 | |
| Otoño | N° especies estimadas | 20,07 | 19,99 | 20,23 | 20,24 | 24,08 | 24,08 | 18,73 | 17 |
| | % de sobreestimación | 18,06 | 17,59 | 19,00 | 19,06 | 41,65 | 41,65 | 10,18 | |

Se calculó la muestra mínima necesaria para incluir a todas las especies observadas mediante una interpolación lineal del punto de cruce en el cual los estimadores comienzan a sobreestimar la riqueza específica observada (Hellmann y Fowler, 1999).

RESULTADOS

La riqueza específica total observada hallada fue 19, mientras que el número de especies halladas por estación fue 13, 17, 15 y 17 en invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente. En la Fig. 1 se observan los valores promedio de las especies que

aparecieron una o dos veces y el total de especies raras, expresados como porcentaje del total de especies observadas, obtenidos al realizar las submuestras y que se utilizan en los cálculos de los estimadores no paramétricos.

En relación a la riqueza específica estimada, en invierno los estimadores Chao 1 y Chao 2 presentaron la mejor estimación de especies, sobreestimando solamente un 3,62 y 3,69 % respectivamente. Sin embargo, los estimadores ACE, ICE y Boot presentaron valores de sobreestimación cercanos al 10%, mientras que Jack 1 y Jack 2 sobreestimaron valores cercanos

Tabla 2. Evaluación del desempeño de los siete estimadores no paramétricos utilizando los indicadores: Sesgo estándar (Ses Est), Precisión estándar (Prec Est) y Exactitud estándar (Exac Est).

| Estaciones | Indicadores | Estimadores | | | | | | | |
|------------|-------------|-------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|
| | | Sobs | ACE | ICE | Chao 1 | Chao 2 | Jack 1 | Jack 2 | Boot |
| Invierno | Ses Est. | -0,10 | 0,05 | 0,05 | -0,02 | -0,01 | 0,06 | 0,06 | -0,02 |
| | Prec Est. | 11,91 | 6,56 | 6,56 | 6,37 | 6,27 | 7,05 | 10,57 | 9,77 |
| | Exac Est. | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,01 |
| Primavera | Ses Est. | -0,16 | 0,13 | 0,11 | 0,18 | 0,18 | 0,04 | 0,19 | -0,08 |
| | Prec Est. | 13,38 | 19,92 | 19,49 | 19,11 | 19,08 | 14,91 | 17,70 | 13,73 |
| | Exac Est. | 0,04 | 0,07 | 0,06 | 0,08 | 0,08 | 0,03 | 0,08 | 0,02 |
| Verano | Ses Est. | -0,13 | 0,06 | 0,05 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,14 | -0,06 |
| | Prec Est. | 11,03 | 15,15 | 14,84 | 10,29 | 10,26 | 10,95 | 11,52 | 10,56 |
| | Exac Est. | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,04 | 0,01 |
| Otoño | Ses Est. | -0,17 | 0,08 | 0,07 | 0,01 | 0,01 | 0,07 | 0,19 | -0,06 |
| | Prec Est. | 16,05 | 7,56 | 7,63 | 10,72 | 10,60 | 12,06 | 10,95 | 14,03 |
| | Exac Est. | 0,05 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,05 | 0,02 |

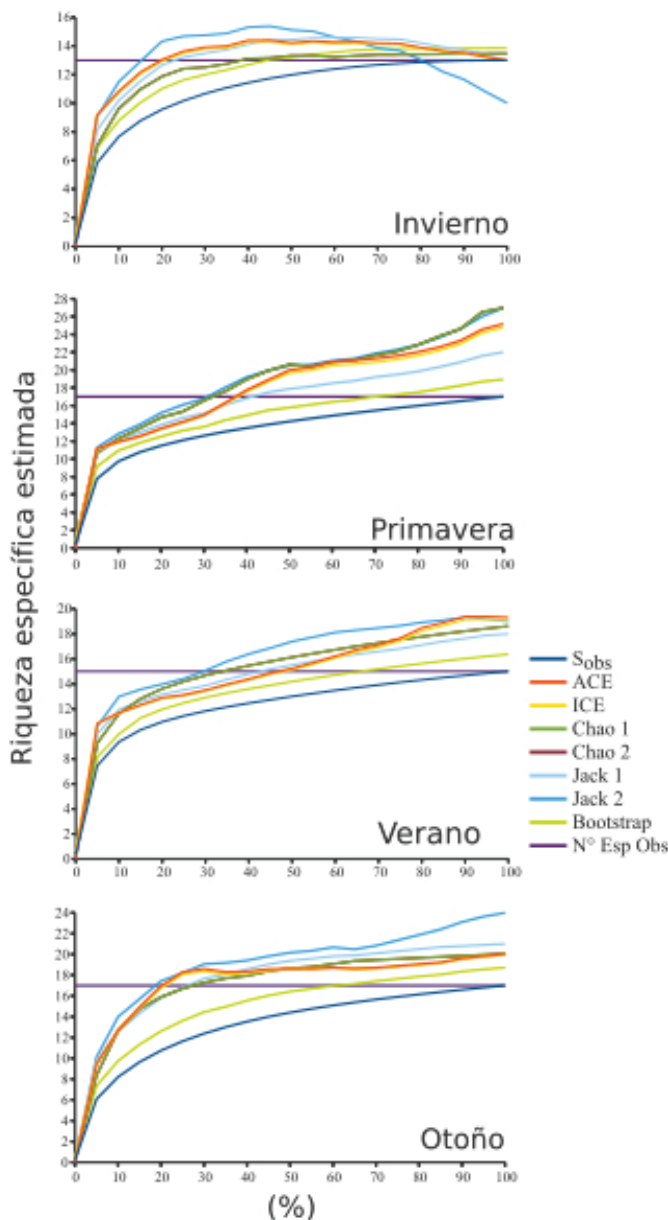


Figura 2. Curvas de acumulación de especies observadas (S_{obs}) y estimadas para cada uno de los siete estimadores no paramétricos. El número total de especies observadas en cada muestra está representado por la línea horizontal (N° Esp Obs).

al 20%. Para el resto de las estaciones, el estimador Boot sobreestimó valores de especies cercanos al 10%, mientras que los demás estimadores presentaron sobreestimaciones de entre el 17,59 y el 60,53% (Tabla 1).

Los estimadores Chao 1 y 2 fueron los menos sesgados, los más precisos y exactos en invierno, verano y otoño. Mientras que Jack 1 y Boot fueron los menos sesgados, los más precisos y exactos en primavera. En general, los estimadores ACE e ICE alternaron entre buenos y malos valores de sesgo, precisión y exactitud dependiendo de la estación estudiada. Finalmente, el estimador Jack 2, en general, presentó los peores valores de sesgo, precisión y exactitud (Tabla 2 y Fig. 2).

Los estimadores que calcularon la menor muestra mínima necesaria para estimar la riqueza observada fueron Jack 1 y 2 en todas las estaciones. Por el contrario, el estimador Boot fue el que calculó la mayor muestra mínima en todas las estaciones. Si bien los estimadores Chao 1 y 2 necesitaron llegar a valores cercanos al 40% de la muestra (360 caracoles para este estudio) para estimar la riqueza observada, fueron los más constantes a lo largo de las cuatro estaciones (Tabla 3 y Fig. 2).

En relación al segundo y tercer criterio propuestos por Melo y Froehlich (2001), los estimadores Chao 1, Chao 2 y Boot presentaron una forma cercana a la ideal en tres de las cuatro estaciones. Chao 1 y 2 tuvieron un comportamiento asintótico en invierno y otoño, no así en verano, pero se aproximaron bastante a éste. Sin embargo, en primavera presentaron un comportamiento errático, como la mayoría de los estimadores. Para Boot, se observó un comportamiento asintótico en invierno y uno casi asintótico en verano y otoño, mientras que en primavera fue el que mejor se comportó. En cuanto a los estimadores Jack 1 y 2, presentaron una forma alejada de la ideal en invierno, mientras que en el resto de las estaciones se comportaron de forma cercana a la ideal sin llegar a un valor asintótico. El desempeño de los estimadores ACE e ICE fue alejado del ideal, y presentaron comportamientos erráticos y sin consistencia entre las estaciones (Fig. 2).

DISCUSIÓN

Los ensamblajes de digeneos larvales en su primer hospedador intermediario se caracterizan por presentar variaciones temporales y espaciales de la prevalencia y riqueza específica (Fernández y Hamann, 2018; Parietti et al., 2021). Estas variaciones se vieron reflejadas en el comportamiento de los estimadores NP, dado que ninguno presentó un desempeño constante en función de los criterios utilizados en su evaluación. Por un lado, todos los estimadores sobreestimaron el número de especies, en algunos casos llegando a valores cercanos al 60% debido a esto no se recomienda su utilización para completar el inventario de especies. Sin embargo, demostraron homogeneidad en el cálculo de la muestra mínima de hospedadores necesaria para detectar una gran proporción de la biodiversidad en este sistema. Por lo tanto, podrían ser considerados como un método adecuado en la definición del esfuerzo de muestreo requerido en estudios comparativos de los ensamblajes de digeneos larvales.

Como se mencionó anteriormente, los estimadores NP han sido utilizados para estimar la biodiversidad de un ambiente que no ha sido muestreado en profundidad o para corregir el efecto del tamaño muestral para comparar la riqueza específica entre ambientes diferentes (Poulin, 1998). Sin embargo,

Tabla 3. Tamaño mínimo de la muestra, medido como porcentaje, requerido por los siete estimadores no paramétricos para estimar la riqueza específica estacional de los ensamblajes de digeneos larvales en *H. parchappii*. \bar{X} (media de los cuatro valores correspondiente a cada estación), SD (desviación estándar).

| Estimadores | Tamaño mínimo de la muestras (%) | | | | \bar{X} | SD |
|-------------|----------------------------------|-----------|--------|-------|-----------|-------|
| | Invierno | Primavera | Verano | Otoño | | |
| Sobs | 96,00 | 99,92 | 99,92 | 99,92 | 98,94 | 1,96 |
| ACE | 20,92 | 37,17 | 48,42 | 20,17 | 31,67 | 13,65 |
| ICE | 21,08 | 38,25 | 49,00 | 20,33 | 32,17 | 13,94 |
| Chao 1 | 38,08 | 32,25 | 39,50 | 44,08 | 38,48 | 4,88 |
| Chao 2 | 38,08 | 32,25 | 39,50 | 43,92 | 38,44 | 4,82 |
| Jack 1 | 15,25 | 30,42 | 29,75 | 18,50 | 23,48 | 7,75 |
| Jack 2 | 15,25 | 30,42 | 29,75 | 18,50 | 23,48 | 7,75 |
| Bootstrap | 44,75 | 69,75 | 71,83 | 61,33 | 61,92 | 12,31 |

pocos estudios se han centrado en evaluar el comportamiento de estos estimadores en función de las características de las comunidades observadas (ver: Cao *et al.*, 2004; Walther y Moore, 2005). En particular, Poulin (1998) fue el primero en estudiar el comportamiento de los estimadores Chao, Jack y Boot en organismos parásitos, utilizando datos simulados. En el mismo, sugiere que el uso de estos estimadores podría disminuir los problemas que surgen de las comparaciones de la riqueza de especies entre comunidades de parásitos debidos al desigual esfuerzo de muestreo. Si bien han pasado 25 años de lo propuesto por Poulin (1998) hasta la actualidad solo se han realizado cinco trabajos parasitológicos que evaluaron alguno de los estimadores aquí estudiados: Zelmer y Esch (1999), Romero-Tejeda *et al.* (2008), Merlo *et al.* (2010), Bautista-Hernández *et al.* (2013) y Teitelbaum *et al.* (2020). Zelmer y Esch (1999) utilizaron datos simulados y sugirieron que el mejor estimador era Jack dado que era insensible a la proporción de especies raras. Por su parte, Teitelbaum *et al.* (2020) también utilizaron datos simulados, correspondientes a parásitos de mamíferos, y sugirieron a los estimadores Jack y Chao 2 como los más robustos. Por otro lado, Romero-Tejeda *et al.* (2008) y Bautista-Hernández *et al.* (2013) utilizan datos reales de parásitos de peces; ambos coinciden en que los mejores estimadores son Chao 1 cuando las prevalencias de cada especie de parásito presentan diferencias significativas entre sí y Boot cuando la prevalencia de cada especie de parásito es similar en la población. Estos últimos tres trabajos que se mencionan, llevan a cabo sus análisis agrupando diversas especies de hospedadores y parásitos, sin considerar la estructura propia de cada ensamblaje en un hospedador determinado. Finalmente, Merlo

et al. (2010) utilizan datos reales de digeneos larvales en dos especies de moluscos, y analizan el comportamiento de los estimadores para cada una de ellas, recomendando la utilización de Boot como el mejor estimador. El estudio aquí realizado puede ser comparado con Merlo *et al.* (2010) dado que se utiliza una misma metodología. Los resultados obtenidos sugieren la utilización del estimador Chao en primer y segundo orden y en menor medida el estimador Boot. Dado que los estimadores no paramétricos le otorgan un peso importante a la presencia de especies que aparecen una o dos veces en las muestras (Poulin, 1998), los resultados dispares entre el trabajo de Merlo *et al.* (2010) y el presente podrían deberse a diferencias en la estructura de los ensamblajes parasitarios, los cuales pueden estar regulados por diversos factores. Si bien Merlo *et al.* (2010) no proporcionan información sobre el número de especies raras, a partir de Merlo y Etchegoin (2011) se puede calcular que estas especies alcanzan el 28,57% (ambos trabajos utilizan el mismo set de datos). En el presente estudio, los estimadores Chao 1 y 2 poseen un mejor desempeño cuando el total de las especies raras alcanza valores superiores al 30% (invierno, verano y otoño). Contrariamente, en primavera el total de especies raras tiene un valor promedio cercano al 26% y el mejor estimador fue Boot. En función de que ambos trabajos utilizan una misma metodología, mismo grupo de parásitos y hospedadores relacionados filogenéticamente, se sugiere el uso de Chao 1 y 2 para ensamblajes que presenten un número de especies raras por encima del 30%. El estimador Boot es más conservador en cuanto al número de especies estimadas (Poulin, 1998) y requiere una muestra mínima mayor para obtener una buena proporción de la diversidad de

digeneos. En función de los resultados obtenidos, se recomienda su uso cuando el número de especies que aparecen una o dos veces en las muestras representa menos del 30% o cuando el sistema está pobremente muestreado.

A pesar de que la biodiversidad es un concepto que no se puede reducir a un único número (Magurran, 2004), hay razones que sustentan el uso de la riqueza de especies como un indicador ecológico del estado general de los ecosistemas. La riqueza específica es relativamente fácil de medir, es comparable entre comunidades y es fácil de entender para los investigadores, para las personas que toman las decisiones de políticas ambientales y para el público en general. Pero el número de especies observado depende del tamaño de la muestra y exhibe generalmente un sesgo negativo (subestimación del número de especies) (Colwell y Coddington, 1994; Gotelli y Colwell, 2001). Sin embargo, ¿pueden los estimadores no paramétricos de riqueza específica reducir este sesgo y aumentar la exactitud, incluso con un menor esfuerzo de muestreo? Magurran (2004) sostiene que, a menos que la comunidad se haya muestreado de modo exhaustivo, estas curvas subestimarán también la riqueza específica. Contrariamente a lo enunciado por Magurran (2004), en esta laguna se han realizado dos estudios que analizan la composición y la dinámica temporal y espacial de los ensamblajes de digeneos larvales, el primero durante los años 2010-2013 y el segundo durante los años 2017-2018. En estos análisis, la riqueza específica total arrojó un valor de 22 y 23 especies respectivamente (Merlo, 2014; Campanini et al., 2022), mientras que los estimadores Chao 1 y 2 estimaron una riqueza máxima de 27 morfotipos larvales de digeneos. Esta sobreestimación podría atribuirse a la presencia de especies raras con bajas prevalencias. Por lo tanto, para futuros estudios de los ensamblajes de digeneos larvales en *H. parchappii* se debería examinar un mayor número de hospedadores para aumentar la exactitud en la determinación de la riqueza específica.

Existen varias metodologías sugeridas para determinar el tamaño mínimo de muestra en investigaciones ecológicas relacionadas a los ensamblajes de digeneos larvales que parasitan caracoles como su primer hospedador intermediario. Por ejemplo, Lafferty et al. (1994) y Huspeni et al. (2005) sostienen que 100 caracoles es un buen tamaño mínimo de la muestra, suficiente para producir una pequeña varianza y para estimar la prevalencia. No obstante, el uso de los estimadores de riqueza para el cálculo del tamaño mínimo de la muestra puede resultar en mejores protocolos de planificación y, por consiguiente, en un ahorro en tiempo e inversión económica en el campo (Soberón y Llorente, 1993).

Utilizando los estimadores, Walther y Morand (1998) propusieron detener el muestreo una vez que la variación de la riqueza estimada de especies es < 5% y Chazdon et al. (1998) sugirieron la selección de un tamaño de la muestra que incorpore una porción predeterminada (por el investigador) de la riqueza total de especies. En el presente estudio, se determinó el tamaño mínimo de muestra como el punto en el cual los estimadores comienzan a sobreestimar la riqueza de especies observada. Este último criterio fue utilizado por Poulin (1998), Hellmann y Fowler (1999), Melo y Froehlich (2001) y Merlo et al. (2010). Si se consideran los estimadores Chao 1 y 2 el número mínimo de hospedadores a examinar debería ser entre 290 y 396 y si se considera el estimador Boot deberían ser entre 402 y 646. Sin embargo, teniendo en cuenta que en algunas estaciones los estimadores no llegaron a un valor asintótico, se propone aumentar el número de hospedadores tradicionalmente examinados de 300 a 400 individuos, para poder obtener una medida más precisa de la biodiversidad en estos sistemas.

El uso de estimadores no paramétricos, al emplear métodos estadísticos robustos que no requieren suposiciones específicas sobre la distribución de los datos, facilita la determinación del tamaño de muestra óptimo para obtener una representación precisa de la diversidad de especies. Además, los estimadores NP constituyen una herramienta valiosa para evaluar la efectividad en la captura de la diversidad de especies presentes en un área o momento determinado. Por consiguiente, la incorporación de estos métodos al inicio de las investigaciones permitiría garantizar la validez y fiabilidad de los resultados obtenidos en los estudios comparativos de los ensamblajes de digeneos larvales en su primer hospedador intermediario.

LITERATURA CITADA

- Bautista-Hernández, C. E., Monks, S. y Pulido-Flores, G. (2013). Los parásitos y el estudio de su biodiversidad: Un enfoque sobre los estimadores de la riqueza de especies. *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*, 2, 13-17.
- Campanini, F. P., Merlo, M. J., Casariego, M. A. M. y Parietti, M. (2022). Diversity and dynamics in larval digenean assemblages parasitizing *Heleobia parchappii* in a freshwater shallow lake from the Southeastern Pampa plain, Argentina. *Parasitology*, 149, 347-355.
- Cao, Y., Larsen, D. P. y White, D. (2004). Estimating regional species richness using a limited number of survey units. *Écoscience*, 11, 23-25. <https://doi.org/10.1080/11956860.2004.11682806>
- Chao, A. y Chiu, C. H. (2016). Species richness: Estimation and comparison. *Wiley StatsRef: statistics reference online*, 1, 26.
- Chao, A., Colwell, R. K., Gotelli, N. J. y Thorn, S. (2019). Proportional mixture of two rarefaction/extrapolation

- curves to forecast biodiversity changes under landscape transformation. *Ecology Letters*, 22, 1913-1922. <https://doi.org/10.1111/ele.13322>
- Chao, A., Kubota, Y., Zelený, D., Chiu, C. H., Li, C. F., Kusumoto, B., Yasuhara, M., Thorn, S., Wei, C. L., Costello, M. J. y Colwell, R. K. (2020). Quantifying sample completeness and comparing diversities among assemblages. *Ecological Research*, 35, 292-314. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12102>
- Chazdon, R. L., Colwell, R. K., Denslow, J. S. y Guariguata, M. R. (1998). Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forests of northeastern Costa Rica. . En: F. Dallmeier y J.A.Comiskey, (Eds.). *Man and the Biosphere Series Vol. 20. Forest biodiversity research, monitoring and modeling: conceptual background and old world case studies (285-309)*. Paris: UNESCO. <http://192.156.137.192/handle/10568/17965>
- Chiarucci, A., Enright, N. J., Perry, G. L. W., Miller, B. P. y Lamont, B. B. (2003). Performance of nonparametric species richness estimators in a high diversity plant community. *Diversity and Distributions*, 9, 283-295.
- Colwell, R. K. (2009) EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples, version 9.1. User's guide and application. <http://purl.oclc.org/estimates>
- Colwell, R. K. y Coddington, J. (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 345, 101-118.
- Cox, K. D., Black, M. J., Filip, N., Miller, M. R., Mohns, K., Mortimor, J., Freitas, T. R., Greiter Loerzer, R., Gerwing, T. G., Juanes, F. y Dudas, S. E. (2017). Community assessment techniques and the implications for rarefaction and extrapolation with Hill numbers. *Ecology and Evolution*, 7, 11213-11226. <https://doi.org/10.1002/ece3.3580>
- Díaz-Morales, D. M., Bommarito, C., Vajedsamiei, J., Grabner, D. S., Rilov, G., Wahl, M. y Sures, B. (2022). Heat sensitivity of first host and cercariae may restrict parasite transmission in a warming sea. *Scientific Reports*, 12, Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05139-5>
- Duan, Y., Al-Jubury, A., Kania, P. W. y Buchmann, K. (2021). Trematode diversity reflecting the community structure of Danish freshwater systems: Molecular clues. *Parasites & Vectors*, 14, 1-15.
- Federman, M. (2003). Mapeo y caracterización de la comunidad de macrófitas en tres lagos someros del Sudeste Bonaerense (Tesis de Grado). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- Fernández, M. V. y Hamann, M. I. (2018). Larval digenean communities in *Biomphalaria* species in two contrasting wetlands from South America. *Diseases of Aquatic Organisms*, 130, 159-164. <https://doi.org/10.3354/dao03256>
- Ferrero, L. (2001). Avifauna de Mar Chiquita (Síntesis del trabajo de Mariano M. Martínez). En: Iribarne, O.O. (Ed.). *Reserva de Biosfera Mar Chiquita: Características físicas, biológicas y ecológicas*. Editorial Martín. Mar del Plata, Argentina
- Fleishman, E., Noss, R. F. y Noon, B. R. (2006). Utility and limitations of species richness metrics for conservation planning. *Ecological Indicators*, 6, 543-553.
- Foggo, A., Attrill, M. J., Frost, M. T. y Rowden, A. A. (2003). Estimating marine species richness: An evaluation of six extrapolative techniques. *Marine Ecology Progress Series*, 248, 15-26. <https://doi.org/doi:10.3354/meps248015>
- Galaktionov, K. V., Nikolaev, K. E., Aristov, D. A., Levakin, I. A. y Kozminsky, E. V. (2019). Parasites on the edge: patterns of trematode transmission in the Arctic intertidal at the Pechora Sea (South-Eastern Barents Sea). *Polar Biology*, 42, 1719-1737. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2413-3>
- Gibson, R., Barnes, M. y Atkinson, R. (2001). Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species. *Oceanography and Marine Biology*, 9, 207-231.
- Gotelli, N. J. y Colwell, R. K. (2001). Quantifying biodiversity: Procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters*, 4, 379-391.
- Hellmann, J. J. y Fowler, G. W. (1999). Bias, precision, and accuracy of four measures of species richness. *Ecological Applications*, 9, 824-834.
- Hughes, J. B., Hellmann, J. J., Ricketts, T. H. y Bohannan, B. J. M. (2001). Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 4399-4406. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4399-4406.2001>
- Huspeni, T. C., Hechinger, R. F. y Lafferty, K. D. (2005). Trematode parasites as estuarine indicators: Opportunities, applications and comparisons with conventional community approaches. En S. A. Bortone (Ed.). *Estuarine indicators (297-314)*. Boca Raton: CRC Press.
- Lafferty, K. D., Sammond, D. T. y Kuris, A. M. (1994). Analysis of larval trematode communities. *Ecology*, 75, 2275-2285. <https://doi.org/10.2307/1940883>
- Mac Nally, R. y Fleishman, E. (2002). Using "indicator" species to model species richness: model development and predictions. *Ecological Application*, 12, 79-92. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2002\)012\[0079:U1STMS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2002)012[0079:U1STMS]2.0.CO;2)
- Magurran, A. E. (2004). *Ecological Diversity and its Measurement*. Princeton: Princeton University Press.
- Melo, A. S. y Froehlich, C. G. (2001). Evaluation of methods for estimating macroinvertebrate species richness using individual stones in tropical streams. *Freshwater Biology*, 46, 711-721. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2001.00709.x>

- Merlo, M. J. (2014) Ecología de las comunidades de digeneos larvales en hospedadores moluscos del género *Heleobia* Stimpson, 1865 (Gastropoda: Rissooidea) (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- Merlo, M. J. y Etchegoin, J. A. (2011). Testing temporal stability of the larval digenean community in *Heleobia conexa* (Mollusca: Cochliopidae) and its possible use as an indicator of environmental fluctuations. *Parasitology*, 138, 249-256.
- Merlo, M. J., Parietti, M. y Etchegoin, J. A. (2010). Evaluation of species richness estimators in studies of diversity involving two larval digenean communities parasitizing snail hosts. *Parasitology Research*, 107, 1093-1102.
- Moreno, C. E. (2000). Métodos para medir la biodiversidad. Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza: Sociedad Entomológica Aragonesa.
- Palmer, M. W. (1990). The estimation of species richness by extrapolation. *Ecology*, 71, 1195-1198.
- Parietti, M., Merlo, M. J. y Etchegoin, J. A. (2021). Effects of droughts on the larval digenean assemblage that parasitizes the snail *Biomphalaria peregrina* (Planorbidae): A 4-year study in a temporary pond from Argentina. *Parasitology Research*, 120, 1909-1914. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07110-1>
- Paull, S. H. y Johnson, P. T. (2018). How Temperature, Pond-Drying, and Nutrients Influence Parasite Infection and Pathology. *EcoHealth*, 15, 396-408.
- Poulin, R. (1998). Comparison of three estimators of species richness in parasite component communities. *Journal of Parasitology*, 84, 485-490. <https://doi.org/doi:10.2307/3284710>
- Romero-Tejeda, M. de la L., García-Prieto, L., Garrido-Olvera, L. y Pérez-Ponce de León, G. (2008). Estimation of the endohelminth parasite species richness in freshwater fishes from La Mintzita reservoir, Michoacán, Mexico. *Journal of Parasitology*, 94, 288-292.
- Schoeman, D. S., Nel, R. y Goulart Soares, A. (2008). Measuring species richness on sandy beach transects: Extrapolative estimators and their implications for sampling effort. *Marine Ecology*, 29, 134-149. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2008.00223.x>
- Soberón, M., J. y Llorente, J. (1993). The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. *Conservation Biology*, 7, 480-488. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1993.07030480.x>
- Teitelbaum, C. S., Amoroso, C. R., Huang, S., Davies, T. J., Rushmore, J., Drake, J. M., Stephens, P. R., Byers, J. E., Majewska, A. A. y Nunn, C. L. (2020). A comparison of diversity estimators applied to a database of host-parasite associations. *Ecography*, 43, 1316-1328. <https://doi.org/10.1111/ecog.05143>
- Walther, B. A., Cotgreave, P., Price, R. D., Gregory, R. D. y Clayton, D. H. (1995). Sampling Effort and Parasite Species Richness. *Parasitology Today*, 11, 306-309. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(95\)80047-6](https://doi.org/10.1016/0169-4758(95)80047-6)
- Walther, B. A. y Morand, S. (1998). Comparative performance of species richness estimation methods. *Parasitology*, 116, 395-405. <https://doi.org/doi:10.1017/S0031182097002230>
- Walther, B. A. y Moore, J. L. (2005). The concepts of bias, precision and accuracy, and their use in testing the performance of species richness estimators, with a literature review of estimator performance. *Ecography*, 28, 815-829. <https://doi.org/10.1111/j.2005.0906-7590.04112.x>
- Zelmer, D. A. y Esch, G. W. (1999). Robust estimation of parasite component community richness. *Journal of Parasitology*, 85, 592-594.

Recibido: 23 de octubre de 2023
 Aceptado: 27 de diciembre de 2023
