

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y ESTUDIO ECOLÓGICO DEL
ENTORNO DE LOS MOLUSCOS HOSPEDEROS INTERMEDIARIOS DE
Fasciola hepatica EN LAS PROVINCIAS DE CAJAMARCA, SAN
MARCOS Y CAJABAMBA - PERÚ.**

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

JÉSSICA NATHALIE BARDALES VALDIVIA

Asesores:

PhD. PEDRO ORTIZ OBLITAS

PhD. SANTIAGO MAS-COMA

CAJAMARCA, PERÚ

2017

COPYRIGHT © 2017 by
JÉSSICA NATHALIE BARDALES VALDIVIA
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS APROBADA

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y ESTUDIO ECOLÓGICO DEL ENTORNO DE LOS MOLUSCOS HOSPEDEROS INTERMEDIARIOS DE *Fasciola hepatica* EN LAS PROVINCIAS DE CAJAMARCA, SAN MARCOS Y CAJABAMBA - PERÚ.

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

JÉSSICA NATHALIE BARDALES VALDIVIA

Comité Científico:

PhD. Pedro Ortiz Oblitas
Asesor

Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
Presidente del Comité Científico

Dr. Carlos Rosales Loredo
Comité Científico Evaluador

Dr. Abel Melchor García Bazán
Comité Científico Evaluador

CAJAMARCA, PERÚ

2017



Universidad Nacional de Cajamarca

Escuela de Pos Grado

CAJAMARCA - PERU

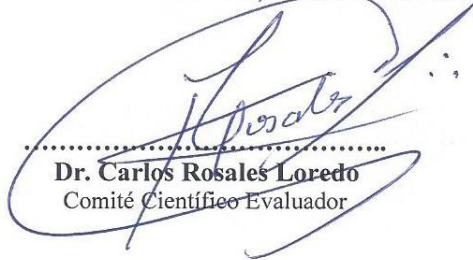
PROGRAMA DE DOCTORADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS DOCTORADO EN CIENCIAS MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

Siendo las once de la mañana del día lunes dieciocho de diciembre del año dos mil diecisiete, reunido en el auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Comité Científico Evaluador presidido por el Dr. Teófilo Torrel Pajares; Dr. Carlos Rosales Loredó, Dr. Abel García Bazán, como integrantes del jurado titular; y en calidad de Asesor, el Ph.D. Pedro Ortiz Oblitas. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Posgrado y el Reglamento del Programa de Doctorado de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada: **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y ESTUDIO ECOLÓGICO DEL ENTORNO DE LOS MOLUSCOS HOSPEDEROS INTERMEDIARIOS DE *Fasciola hepatica* EN LAS PROVINCIAS DE CAJAMARCA, SAN MARCOS Y CAJABAMBA – PERÚ**; presentada por la Mg.Q.F. JESSICA NATHALIE BARDALES VALDIVIA con la finalidad de optar el Grado Académico de **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó ... **APROBAR** con la calificación de **S.O.BRESACIENTE** ... **(19)** la mencionada Tesis; en tal virtud, la Mg.Q.F. JESSICA NATHALIE BARDALES VALDIVIA está apta para recibir en ceremonia especial el Diploma que la acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Siendo las **12:40** horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Carlos Rosales Loredó
Comité Científico Evaluador


.....
Dr. Abel García Bazán
Comité Científico Evaluador


.....
Dr. Teófilo Torrel Pajares
Presidente Comité Científico Evaluador

A:

Dios por guiar e iluminar mi camino.

Mis amados César, Diego y Alessandro, ya que gracias a su absoluto apoyo, comprensión y amor me impulsaron a lograr esta meta trazada en mi vida profesional.

Mis padres, hermanos y amigos por su ejemplo, enseñanzas y apoyo, los que fueron el motor fundamental para el logro de mis anhelos.

*Si buscas resultados distintos
No hagas siempre lo mismo*

- Albert Einstein

CONTENIDO

Ítem	Página
AGRADECIMIENTOS	xii
LISTA DE ABREVIACIONES	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT.....	xv
CAPÍTULO I : INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	4
2.1 Antecedentes Teóricos de la investigación	4
2.2 Bases teóricas.....	6
2.2.1 Ecoepidemiología	6
2.2.2 Epidemiología	7
2.2.3 Etiología.....	11
2.2.4 Ciclo biológico de la <i>Fasciola hepatica</i>	11
2.2.5 Anatomía y fisiología de las especies intermediarias	12
2.2.6 Condiciones de desarrollo de los hospederos intermediarios de <i>Fasciola hepatica</i>	16
2.3 Definición de términos básicos	17
CAPÍTULO III: DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS	19
3.1 Hipótesis:	19
3.2 Tipo y descripción del diseño de contrastación de la hipótesis.	19
3.2.1 Localización:.....	19
3.2.2 Unidad de análisis, universo y muestra.....	22
3.3 Diseño experimental	22
3.3.1 Registro de recolección.....	22
3.3.2 Obtención de los caracoles Lymnaeidos.....	22
3.3.3 Obtención de las muestras de agua.	24
3.3.4 Estudios geográficos.	25
3.3.5 Medición de altitud y latitud.	25
3.3.6 Medida de la precipitación, temperatura y humedad.	25
3.3.7 Características fisicoquímicas de las muestras de agua.....	25

3.3.8	Identificación molecular de caracoles Lymnaeidos	38
3.4	Análisis estadístico.....	40
CAPÍTULO IV: RESULTADOS		41
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN		80
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES		87
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES		88
LISTA DE REFERENCIAS		89
APÉNDICES.....		100

LISTA DE ILUSTRACIONES

Tablas	Página
Tabla 1. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Estación de invierno (2015).	41
Tabla 2. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de invierno (2015). Cajamarca.	42
Tabla 3. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de invierno (2015).	43
Tabla 4. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de invierno (2015).	44
Tabla 5. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Estación de primavera (2015).	45
Tabla 6. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de primavera (2015).	46
Tabla 7. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de primavera (2015).	47
Tabla 8. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de primavera (2015).	48
Tabla 9. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Estación de verano (2016).	49

Tabla 10. Análisis fisicoquímico del agua de los canales de regadío de donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de verano (2016).....	50
Tabla 11. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de verano (2016).	51
Tabla 12. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de verano (2016).	52
Tabla 13. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos. Estación de otoño (2016).	53
Tabla 14. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de otoño (2016)..	54
Tabla 15. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de otoño (2016).	55
Tabla 16. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de otoño (2016).	56
Tabla 17. Número de moluscos Lymnaeidos recolectados en canales de regadío de caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba – Perú, en 4 estaciones.	70
Tabla 18. Especies de caracoles Lymnaeidos identificados molecularmente con el marcador ITS-2, recolectados de 7 caseríos de la provincias de Cajamarca, 5 caseríos de la provincia de San Marcos y 3 caseríos de la provincia de Cajabamba, durante las estaciones invierno - primavera (2015) y verano - otoño (2016).....	75

Figuras

Página

Figura 1. Distribución geográfica de los lugares de recolección de Lymnaeidos.	21
Figura 2. Canales de regadío de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba en donde se tomaron las muestras de agua y se recolectaron los caracoles Lymnaeidos.....	24
Figura 3. Comparación de la medida de turbidez de las muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno y primavera-2015 y verano y otoño-2016).....	57
Figura 4. Comparación de la medida de pH de muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).. ..	58
Figura 5. Comparación de la medida de la temperatura de muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).....	59
Figura 6. Comparación de la medida de la conductividad de muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).....	60
Figura 7. Comparación de la cantidad de sulfatos en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).....	61
Figura 8. Comparación de la cantidad de nitratos en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).....	62
Figura 9. Comparación de la cantidad de nitritos en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).. ..	63
Figura 10. Comparación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016).. ..	64
Figura 11. Comparación de las medidas de los sólidos suspendidos totales en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y	

Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	65
Figura 12. Comparación de la cantidad de sodio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	66
Figura 13. Comparación de la cantidad de potasio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	67
Figura 14. Comparación de la cantidad de calcio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	68
Figura 15. Comparación de la cantidad de magnesio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	69
Figura 16. Cantidad total de moluscos Lymnaeidos recolectados en canales de regadío de caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	71
Figura 17. Total de moluscos Lymnaeidos recolectados en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016)..	72
Figura 18. Bandas con amplicones de ITS2 - Estación invierno..	73
Figura 19. Bandas con amplicones de PCR al ITS2 - Estación primavera..	73
Figura 20. Bandas con amplicones de PCR al ITS2 - Estación verano..	74
Figura 21. Bandas con amplicones de PCR al ITS2 - Estación otoño..	74
Figura 22. Árboles filogenéticos de las especies recolectadas en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante las estaciones invierno – primavera (2015) y verano – otoño (2016)..	76

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi esposo e hijos por su paciencia, comprensión, apoyo y amor absoluto, lo que me permitió cumplir con esta meta trazada en mi vida profesional.

A mis padres por haberme apoyado en este arduo trabajo, apoyo necesario y fundamental para el desarrollo de mi tesis.

Agradezco de una manera muy especial a los asesores y colaboradores de este trabajo: PhD. Pedro Ortiz Oblitas, PhD. Santiago Mas-Coma, Dr. Carlos Rosales Loredó, Dr. Homero Bazán Zurita, Ing. Luis Felipe Díaz, Ing. Alfredo Chávez Álvarez, Ing. Marco Narro Centurión, M.V. César Goicochea Portal, M.V. César Bardales Bardales, M.V. Cristian Hobán Vergara, Dra. Juana Del Valle Mendoza, Dr. César Guaylupo, quienes con su apoyo incondicional y sus conocimientos pudieron saber guiarme para poder cristalizar este sueño.

Agradezco infinitamente a los docentes de esta Cátedra y a las autoridades del CONCYTEC por haberme permitido contar con la ayuda académica y económica, las cuales han sido indispensables para poder realizar mis estudios de doctorado.

LISTA DE ABREVIACIONES

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

ITS-2: Internal Transcribed Spacer

OMS: Organización Mundial de la Salud

ADNr: Ácido Desoxiribonucleico ribosomal

GPS: Sistema de Posicionamiento Global

SENHAMI: El Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología

AWWA: American Water Works Association

DBO: Demanda Bioquímica de Oxígeno

dNTPs: Desoxirribonucleótidos trifosfato

bp: Pares de Bases

UNT: Unidades Nefelométricas

RESUMEN

La fascioliasis es una enfermedad de salud pública sobre todo en el valle de Cajamarca-Perú, el cual ha sido catalogado, como “valle patrón en transmisión”. Este estudio tuvo como objetivo la caracterización molecular y el estudio ecológico del entorno de los moluscos hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú. Para ello se realizaron recolecciones de los moluscos en caseríos de las provincias referidas, en cuatro estaciones durante los años 2015 y 2016. Los caracoles fueron contados y analizados morfológica y molecularmente. Se tomaron muestras de agua a las que se llevaron a cabo análisis fisicoquímicos. Se midieron la temperatura, humedad y precipitación del ambiente de las áreas de estudio. Los resultados obtenidos nos demuestran que en Cajamarca los caracoles Lymnaeidos se desarrollan en las cuatro estaciones estudiadas, los mismos que morfológica y molecularmente son diferentes en algunos lugares de recolección, encontrando especies como *Galba truncatula*, *Galba schirazensis* y *Pseudosuccinea columella*. Las características fisicoquímicas del agua y del ambiente fueron favorables para el desarrollo de los moluscos en los lugares analizados.

Este estudio concluye que el entorno ecológico de los moluscos hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú es favorable para su desarrollo durante todo el año y que molecularmente varían según las estaciones y lugares de recolección.

Palabras clave: *Fasciola hepatica*, *Galba truncatula*, *Galba schirazensis*, *Pseudosuccinea columella*, análisis fisicoquímico, análisis molecular, epidemiología.

ABSTRACT

Fascioliasis is a public health disease, especially in the Cajamarca-Peru valley, which has been classified as a "standard valley in transmission". This study aimed at the molecular characterization and ecological study of the environment of mollusc intermediate hosts of *Fasciola hepatica* in the provinces of Cajamarca, San Marcos and Cajabamba-Peru. For this purpose, molluscs were collected in hamlets of the referred provinces, in four seasons during the years 2015 and 2016. The snails were counted and analyzed morphometrically and molecularly. Water samples were collected to which physicochemical analyzes were carried out. Temperature, humidity and precipitation from environment of the study areas were measured. The results show that in Cajamarca snails Lymnaeids snails develop in the four studied stations, the same that morphologically and molecularly are different in some places of collection, found species like *Galba truncatula*, *Galba schirazensis* and *Pseudosuccinea columella*. The physicochemical characteristics of water and the environment were favorable for the development of molluscs in the analyzed places. This study concludes that the ecological environment of intermediate host molluscs of *Fasciola hepatica* in the provinces of Cajamarca, San Marcos and Cajabamba - Peru is favorable for their development throughout the year and that molecularly vary according to the seasons and places of collection.

Key words: *Fasciola hepatica*, *Galba truncatula*, *Galba schirazensis*, *Pseudosuccinea columella*, physicochemical analysis, molecular analysis, epidemiology.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La Fascioliasis es una enfermedad parasitaria causada por *Fasciola hepatica* o *Fasciola gigantica*. Antes de la década de los 90s era bien conocida por su alto impacto veterinario, pero posteriormente se han desarrollado nuevos estudios en los que se está tratando acerca de la fascioliasis humana, la misma que viene afectando cada vez más a más personas en Cajamarca. Según su heterogeneidad se han demostrado diferentes patrones de transmisión según las áreas endémicas (Ortiz, 2011; Mas-Coma et al., 2005).

F. hepatica necesita de un molusco Lymnaeido que participa como hospedero intermediario para su desarrollo (Mas-Coma et al., 20015 y Larrea et al., 1990). Según Mas-Coma et al. (2001), los Lymnaeidos habían sido clasificados como locales en Cajamarca; sin embargo, encontramos Lymnaeidos en otros continentes los que podrían llegar a nuevos lugares por la importación y/o exportación de ganado infectado. Esto ha hecho que este problema de salud pública tenga una dimensión internacional.

Este parásito presenta una gran capacidad de adaptación a diferentes entornos, hábitats, climas, estaciones, características fisicoquímicas del agua en donde se desarrolla, entre otros aspectos. Se ha observado que se puede desarrollar en regiones de mucha altitud como es el caso de los Andes; sin embargo, se ha demostrado que en tierras bajas del hemisferio norte la enfermedad no podría existir (Fuentes et al., 1999; Mas-Coma et al., 1999b; Mas-coma et al, 2001).

Los Lymnaeidos parecen ser un grupo gasterópodo muy antiguo, los cuales han sido identificados con ayuda de marcadores genéticos, han sido de suma utilidad para distinguir los patrones de transmisión y la situación epidemiológica (Mas-Coma et al., 2009a). Así tenemos, en la actualidad, identificados tres grupos basados en el marcador molecular ITS-2, como por ejemplo los del género *Galba* (Bargues et al., 2011), el fósil más antiguo conocido (entre 146 y 208 millones de años) junto a *Radix* (Zilch, 1959-1960); Larrea et al., 1990, identificaron en el Perú a *Lymnaea* (*Fossaria*) *viatrix*; sin embargo, en Cajamarca Bargues et al. (2012), caracterizaron molecularmente a las especies *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* y *Lymnaea schirazensis*.

Es muy importante conocer el entorno ecológico y genético de los Lymnaeidos para poder comprender la epidemiología de la fascioliasis y de esta manera poder proponer estrategias de control de la enfermedad (Prepelitchi, 2009).

Por tal motivo en este estudio se formuló la siguiente pregunta:

¿Existen características ecológicas y moleculares que influyen en la abundancia y dinámica poblacional de los Lymnaeidos hospederos intermediarios de la *Fasciola hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú?

Teniendo el siguiente objetivo general:

- Realizar un estudio ecológico y molecular de los Lymnaeidos hospederos intermediarios de la *Fasciola hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú.

Y los siguientes específicos:

- Identificar la relación de los factores ecológicos con el desarrollo de los Lymnaeidos hospederos intermediarios de la *F. hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú.
- Identificar molecularmente las especies de Lymnaeidos hospederos intermediarios de la *F. hepatica* en la zona de estudio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Teóricos de la investigación

Un estudio realizado en seis localidades de la provincia de Cajamarca-Perú, localizadas entre 2627 y 3061 m. de altitud, demostraron que la prevalencia de fascioliasis en humanos va desde 6,7 hasta 47,7 % (Gonzales et al., 2011).

Giménez et al. (2014), en su estudio acerca de la infección natural por *F. hepatica* en *Lymnaea* spp., obtuvieron como resultado que la combinación de altas temperaturas y baja pluviosidad en los sitios de recolección afectaría negativamente a la población de caracoles.

En Cajamarca fueron caracterizadas molecularmente tres especies de caracoles Lymneidos: *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* y *Lymnaea schirazensis*. En este estudio los investigadores concluyeron que dadas las diferencias de su capacidad de transmisión de la fascioliasis: *G. truncatula* principalmente está involucrada en la transmisión a los seres humanos, *L. neotropica* normalmente responsable de la infección del ganado, y *L. schirazensis* presenta incapacidad de transmisión (Bargues et al., 2012).

En un estudio realizado en tres distritos del departamento de Junín, Perú, se observó que los tres distritos presentaban condiciones favorables para el desarrollo de la distomatosis hepática, condiciones como temperatura (10 a 22 ° C), humedad adecuada y presencia de fuentes de agua. La presencia de charcos, riachuelos y pantanos cercanos a las viviendas y colindantes con campos de cultivo y áreas de pastoreo, así como la presencia de plantas acuáticas (berros) en el distrito de Masma

crearon un ambiente favorable para el desarrollo de *F. hepatica*, así como para la reproducción de caracoles, principalmente Lymnaeidos, los cuales abundan en esa zona (Mantari et al., 2012).

Claxton et al. (1997), en su estudio acerca de la epidemiología de la fascioliasis en Cajamarca, observaron que la infección de los caracoles con miracidios de *F. hepatica* se produjo entre los meses de enero a marzo de cada año, obteniendo los mayores valores de infección en el mes de marzo. Los autores concluyeron que es la humedad y no la temperatura lo que parece ser el factor principal para mantener a los caracoles.

El Altiplano Boliviano es una región altamente endémica de fascioliasis humana, la cual depende de las características químicas, climáticas y geográficas de los cuerpos de agua. La prevalencia de fascioliasis en niños en edad escolar está relacionada con la distancia que hay a los cuerpos de agua en donde están presentes los caracoles Lymnaeidos, al tamaño de la población y de la extensión de estos (Mas-Coma et al., 1999b).

En un estudio acerca de los moluscos en el Lago Titicaca, el autor demostró que el contenido en sales disueltas eran relativamente elevadas, y ello fue atribuido a la fuerte erosión de la cuenca vertiente. Su estabilidad está asegurada por un tiempo de permanencia importante de las aguas en el lago. La salinidad tiene efectos adversos para Lymnaeidos, por lo tanto este estudio sobre la malacofauna del lago Titicaca demuestra que nunca se han encontrado Lymnaeidos en sus aguas (Iltis, 1991).

Villegas L. (1984) y Vicente F. (1968), indican que los caracoles pueden vivir en un medio pobre en oxígeno, debido a la gran cantidad de materia orgánica.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Ecoepidemiología

La ecoepidemiología estudia los efectos de las parasitosis en las poblaciones, los patrones temporales y espaciales de su aparición y persistencia, la interacción de los factores ambientales con las poblaciones de parásitos y hospedadores y su influencia en la dinámica de transmisión (Smith et al., 2005).

La comprensión del ambiente con respecto a la transmisión de muchas enfermedades infecciosas de importancia en salud pública, en particular las transmitidas por vectores, nos brindan conceptos y las herramientas necesarias para tratar los problemas complejos en salud pública. Así, la ecoepidemiología brinda un potencial de opciones que se traducen en visiones más integradas de las enfermedades y nuevas posibilidades para prevenirlas y controlarlas (Rodríguez-Morales, 2005; Traub et al., 2005).

El estudio de ese entorno puede implicar distintos puntos de vista, componentes, factores y disciplinas para evaluarlos, dado que estos problemas son multifactoriales; hasta hace poco tiempo ese estudio ecológico, definido por algunos autores como el estudio en el cual el análisis de una relación o interacción se basa en datos agregados o agrupados (tales como tasas, proporciones y promedios) – datos no colectados a un nivel individual–, se realizaba exclusivamente con información recogida en el campo, tales como temperatura, precipitaciones, humedad relativa, salinidad, vegetación, fauna, entre otros (Beck et al., 2000; Tran et al., 2002).

Es importante remarcar que la fascioliasis es la enfermedad de transmisión vectorial que presenta la más amplia distribución latitudinal, longitudinal y altitudinal (Mas-Coma et al., 2008).

2.2.2 Epidemiología

El desarrollo de una estrategia efectiva para el control integrado de la fascioliasis, requiere de un profundo conocimiento de su epidemiología, la cual está relacionada al estudio de la ecología y la dinámica poblacional del hospedador intermediario y su relación con los factores ambientales (Ministério Da Saúde, 2008; Torgerson y Claxton, 1999).

La fascioliasis es una enfermedad de distribución mundial, que se encuentra en las regiones subtropicales y tropicales del mundo, incluyendo América Latina, EE.UU., Reino Unido, Irlanda, Europa, Oriente Medio, Asia y África (Teixeira et al. 2012).

En América Latina su distribución es amplia, incluyendo reportes que señalan la presencia del parásito desde Norteamérica pasando por Centroamérica y Sudamérica en países como Colombia, Venezuela, Brasil, Perú, Bolivia, Argentina, Chile, Paraguay y Uruguay (Cordero y Rojo, 2002).

La infección humana es considerada una zoonosis emergente por la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) y los informes más recientes estiman que 17 millones de personas estarían infectadas en el mundo (Hopkins, 1992; Mas-Coma et al., 1999a).

En América Latina, el mayor número de casos de fascioliasis humana se presenta en la región del altiplano de Bolivia, entre el lago Titicaca y el valle de La Paz, con tasa de prevalencia del 15,4% (Mas-Coma, 1999a).

En la fascioliasis humana, se han descrito situaciones de hipoendemia ($< 1\%$), mesoendemia ($1 - 10\%$) e hiperendemia ($> 10\%$), clasificada según la intensidad de infección: $< 1\%$ (huevos por gramo de heces muy escaso), entre $1 - 10\%$ (intensidad de huevos por gramos de heces algo mayor) y $>10\%$ (superior a 100 huevos por gramo de heces) (Bargues et al., 1996; Esteban et al., 1998; Mas-Coma et al., 1999a, 2007, 2008, 2011).

El análisis filogenético de secuencias del ADN ribosomal y mitocondrial de los vectores Lymnaeidos y fasciolas adultas, apunta a que el parásito ingresa al Perú con la llegada del ganado europeo durante la intensiva colonización del Nuevo Mundo. (Mas-Coma et al., 2009).

En Perú, las más altas prevalencias de fascioliasis humana y animal son en la sierra, principalmente en los valles andinos de Cajamarca, Junín, Cusco y Arequipa (Marcos et al., 2005, Espinoza et al., 2005), así como en la altiplanicie de la cuenca del Lago Titicaca (Esteban et al., 2002, Mas-Coma et al., 1999b). También se ha reportado altas tasas de infección animal en regiones con baja prevalencia humana (Valencia et al. 2005), señalando el alto riesgo de brotes epidémicos de la infección en poblaciones humanas, tal como se ha presentado en algunos países (Hardman et al. 1970; Rokni, 2008). En la actualidad, hay 91,1 millones de personas en riesgo de infección en el mundo (Keiser y Utzinger, 2005).

Nuevas regiones podrían verse afectadas por estas parasitosis (Mas-coma et al., 2008; Mas-Coma et al., 2009a). El cambio en los hábitos alimenticios han conducido a ver casos complicados agudos de fascioliasis en áreas no endémicas (Marcos et al., 2008). La proximidad de las áreas rurales endémicas (Marcos et al., 2007) a las ciudades sería una potencial fuente de infección debido al transporte y consumo de vegetales contaminados de estas zonas. La región andina es endémica posiblemente a la alta capacidad de adaptación del hospedero intermediario a los diferentes pisos ecológicos de los Andes, pues se ha encontrado el vector infectado hasta 4500 msnm (Mas-Coma et al., 1999b; Londoño et al., 2009).

Los determinantes más importantes del clima son la temperatura, el régimen de lluvias y el balance hídrico (Carnevali, 1994).

La temperatura afecta directamente la tasa de crecimiento, la edad de maduración sexual y la fecundidad (Islam et al., 2001) y puede inhibir o acelerar muchos procesos biológicos de los caracoles (Claxton et al., 1999).

La latitud y la altitud determinan la temperatura. La temperatura media de la atmósfera disminuye 0,5°C por cada grado que aumenta la latitud y por cada 100 m de elevación en la altitud (Flores et al., 2008).

La humedad también resulta fundamental para la vida de estos caracoles que sólo pueden desarrollarse en suelos húmedos y saturados de agua (Ollerenshaw, 1971; Mas-Coma et al., 1999b).

Las propiedades fisicoquímicas más relevantes del agua son temperatura, color, olor-sabor, turbidez-transparencia, residuo seco, conductividad, pH, oxígeno; compuestos de carbono como cianuro, compuestos nitrogenados como el amonio, nitritos, nitratos; compuestos de azufre como sulfuros, sulfitos, sulfatos;

compuestos fosforados, sílice; halógenos como fluoruros, cloruros, bromuros y yoduros; metales en aguas como aluminio, antimonio, arsénico, boro, cadmio, cobre, cromo, hierro, manganeso, mercurio, níquel, plomo, sodio, selenio y compuestos orgánicos como halogenados, hidrocarburos aromáticos, ácidos, alcoholes, cetonas y aldehído, pesticidas y herbicidas, aminas y amidas, detergentes, entre otros. La temperatura del agua se establece por la absorción en las capas superiores y las variaciones de la temperatura afectan a la solubilidad de sales y gases, y en general a las propiedades químicas y microbiológicas (Snoeyink y Jenkins, 2002; Rodríguez y Marín, 1999).

La turbiedad del agua está asociada con minerales, partículas orgánicas húmicas y partículas filamentosas. Los residuos secos indican la cantidad total de sales como SO_4^{2-} , HCO_3^- , Cl^- , NO_3^- y Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , iones que están relacionados con la conductividad eléctrica, la que es producida por los electrolitos disueltos en el agua. El pH es debido al equilibrio carbónico y a la actividad vital de los microorganismos acuáticos (Snoeyink y Jenkins, 2002; Rodríguez y Marín, 1999).

Las altas precipitaciones o el riego artificial en zonas con escasa pendiente o mal drenaje favorecen la acumulación de agua en el suelo. Cuando la temperatura oscila entre los 10°C y 30°C y hay suficiente humedad, en el suelo se generan condiciones favorables para el establecimiento y el desarrollo de poblaciones abundantes de caracoles de la familia Lymnaeidae que pueden persistir en el tiempo (Torgerson y Claxton, 1999; Prepelitchi, 2009).

La temperatura anual media diaria del aire en Cajamarca y la presencia de agua en los valles derivada de las lluvias y de las grandes cantidades de riego, son

condiciones favorables para el desarrollo del huésped intermediario de *F. hepatica*; condiciones que podrían potenciar la infección de fascioliasis durante todo el año (Claxton et al., 1997).

Los caracoles Lymnaeidos se desarrollan en ambientes donde el pH oscila entre 5 y 8,6 (Van-Someren, 1946; Mas-Coma et al., 1999b).

Las condiciones climáticas, por lo tanto, también le dan sustento a la hipótesis de que la mayoría de las infecciones se desarrollan durante febrero y marzo (Claxton et al, 1997; Mas-Coma et al., 1999b).

2.2.3 Etiología

La fascioliasis es una enfermedad ocasionada por *F. hepatica* y *F. gigantica* (Estuningsih et al. 1997). Para que este parásito complete su ciclo de vida necesita de dos hospederos, un intermediario, por el cual posee una gran especificidad, los cuales son especies de caracoles de agua dulce de la familia Lymnaeidae y un hospedador definitivo que incluye muchos mamíferos herbívoros, incluyendo al hombre (Lazara et al. 2009; Londoño et al., 2009; Malek, 1985; Dalton and McManus, 2006; Mas-Coma et al., 2005).

2.2.4 Ciclo biológico de la *Fasciola hepatica*

El ciclo biológico de *F. hepatica* es diheteroxeno es decir presenta un hospedador intermediario (Molusco Gasterópodo, altamente específico) y un hospedador definitivo (mamífero, no tan específico). Este ciclo puede dividirse en tres fases, dentro del hospedador definitivo (juveniles, adultos y huevos), dentro del hospedador intermediario (esporoquistes, redias y cercarias) y en el medio

ambiente (huevos, miracidios, cercarias y metacercarias) (Andrews, 1999; Boray, 1981, 1982; Chen y Mott, 1990).

La *F. hepatica* elimina sus huevos por medio de las heces; al caer estos en corrientes de agua dulce se embrionan en pocos días dando salida a la larva ciliada o miracidio, que en aproximadamente 8 horas deberá encontrar a su hospedero. Cuando la larva encuentra al caracol de agua dulce por ejemplo, pierde los cilios y se inicia la “explosión reproductiva” en cadena, es decir, las redias madres existentes dentro del esporocisto son liberadas y de inmediato comienzan a generarse las redias hijas. Este proceso multiplicador y asexual ocurre principalmente en el hepatopáncreas del molusco. Finalmente, salen las cercarias bien diferenciadas y se adhieren a las hojas de los berros acuáticos al secretar un fluido gomoso y elástico que al solidificarse forja la metacercaria infectante.

Después de aproximadamente una hora la metacercaria comienza a desenquistarse y una vez liberado del quiste el juvenil atraviesa la pared intestinal y tres horas después se encontrará en la cavidad peritoneal, hasta 15 días posteriores llegará a la cápsula de Glisson y perforará para migrar hacia el hígado y a través del parénquima hepático se localizará en los conductos biliares, donde alcanza el estado adulto en unos dos meses después de la infección (Carrada-Bravo, 2003; Andrews, 1999).

2.2.5 Anatomía y fisiología de las especies intermediarias

Los caracoles que actúan como hospedadores intermediarios en el ciclo de vida de *F. hepatica* pertenecen a la Clase Gastrópoda, Subclase Pulmonata, Orden Basommatophora, familia Lymnaeidae (Remigio y Blair, 1997).

Esta familia representa uno de los grupos con mayor número de especies entre los caracoles de agua dulce (*Lymnaea viatrix*, *Pseudosuccinea columella*, *Fossaria cubensis*, *Galba truncatula*, *Lymnaea schirazensis*, *Lymnaea neotropica*) y están distribuidos en todo el mundo (Remigio y Blair, 1997; Lazara et al. 2009; Londoño et al., 2009; Malek, 1985; Dalton and McManus, 2006; Mas-Coma et al., 2005).

Tienen distintas características entre especies, por ejemplo, en la forma de su conchilla, la morfología de su próstata, de su uréter, de la vaina del pene y del prepucio (Paraense, 1983; Issia et al., 2008) y a nivel molecular (Duffy et al., 2009; Bargues et al, 2012).

Externamente los caracoles del género *Lymnaea* están constituido por un pie, dos antenas y un caparazón e internamente por hepatopáncreas, riñones, ductos glandulares digestivos, conductos hepáticos, glándula digestiva, senos venosos, ductos lagunares (Sokolina et al., 2012).

Entre la morfología de los caracoles Lymnaeidae tenemos la descripción de *L. columella* elaborada por Prepelitchi (2009), quien describió a la conchilla de forma ovalada, compuesta por 5 anfractos. El primero de estos anfractos, denominado espira del cuerpo, es muy voluminoso y alcanza una longitud 3 veces mayor que en el resto de los anfractos. Los 4 anfractos restantes se agrupan en la parte distal de la conchilla y forman un espiral corto que termina en un ápice puntiagudo. La conchilla posee líneas de crecimiento gruesas atravesadas por líneas espirales finas que le confieren una ornamentación muy característica. La apertura es alargada y ocupa dos tercios de la longitud total.

En el aparato reproductor masculino de *L. columella* la próstata, el ducto seminal deferente y el eferente no se diferencian entre sí, ya que tienen forma de cinta delgada y poseen aproximadamente el mismo ancho y el prepucio es de 2 a 6 veces más largo que la vaina del pene (Prepelitchi, 2009).

El aparato reproductor femenino está compuesto por una glándula del albumen muy voluminosa que cubre parcialmente el oviducto. Este último, describe una trayectoria aproximadamente circular y se ubica entre la glándula del albumen y glándula nidamental. La vesícula seminal se ubica a la izquierda de la glándula del albumen y posee una apariencia globosa, como si estuviera constituida por pequeños paquetes. A continuación de la glándula nidamental se encuentra el útero de paredes muy finas que se angosta hacia la zona distal y gira hacia la derecha para continuar en la vagina. La espermateca que puede adoptar distintas formas se localiza a la izquierda de la vagina y posee color anaranjado (Prepelitchi, 2009).

El órgano renal se extiende en forma lineal por el lado derecho del pericardio a través del manto. En su porción distal, el uréter describe un recorrido en forma de “S” o de doble flexión y luego gira hacia la derecha de forma tal que la abertura termina en el pneumostoma. La conchilla, el uréter, la próstata y el pene/prepucio, entre distintas especies de Lymnaeidos pueden ser diferentes (Prepelitchi, 2009).

Las células epiteliales tienen un tamaño de 5 a 10 μ y el epitelio respiratorio mide alrededor de 15 -16 μ en promedio (Sokolina et al., 2012).

La sustancia intercelular de las células epiteliales del molusco está compuesta de mucopolisacáridos, con gran contenido de ácido hialurónico (Sokolina et al., 2012).

Son diversas y abundantes las células que configuran el tejido conjuntivo, éstas están representadas por células fusiformes y células en forma de estrella que con sus ramales se sujetan a la membrana basal que es muy delgada, y no es raro observar que se acompañe de fibras elásticas de colágeno unidas dentro de paquetes robustos. Estas fibras son siempre notables por su gran durabilidad y su poca elasticidad, además son parte de la sustancia intercelular que es amorfa, viscosa e incolora, la cual no tiene diferenciación morfológica visible y no es observable mediante microscopía óptica (Sokolina et al., 2012).

Está constituido también por tegumentos, epitelio intertegumentario del hepatopáncreas, tejido conjuntivo del hígado, glándula digestiva, senos venosos, ductos lagunares; las fibras del tejido conjuntivo se desarrollan de manera abundante, mucopolisacáridos, ductos glandulares digestivos, hígado que consiste en numerosos tubos formados por una capa de células hepáticas con núcleo redondo u oval situado en la parte basal de la célula, y tejido elástico de sostén (células ovaladas con núcleo redondo u oval pero con superficie espiculada) (Sokolina et al., 2012).

La presión ejercida sobre los conductos hepáticos por los parásitos genera la desaparición de sus hendiduras, dificulta el acceso de hemolinfa, sustancias alimenticias y oxígeno, lo que genera finalmente que se produzcan depósitos adiposos en el hígado del molusco y se presente autólisis de las células

digestivas; lo que genera profundas alteraciones fisiológicas y muerte de las células hepáticas del molusco (Sokolina et al., 2012).

El hígado del molusco consiste en numerosos tubos redondos y ovalados en la sección transversal unidos a la masa compacta por tejido conjuntivo. Están formados por una capa de células de 2 tipos: hepático (grandes células cilíndricas con núcleo redondo u oval situado en la parte basal de la célula) y tejido elástico de sostén (células ovaladas por núcleo redondo u oval pero con superficie espículada) (Sokolina et al., 2012).

Los miracidios se anclan sobre el epitelio del molusco, formando una especie de embudo de succión (Sokolina et al., 2012).

Larrea et al. (2007), observaron que las especies *L. viatrix* y *L. columella* se infectan naturalmente con estadios larvarios de *F. hepatica*.

2.2.6 Condiciones de desarrollo de los hospederos intermediarios de

Fasciola hepatica.

Los caracoles que intervienen como vectores realmente son anfibios pulmonados y viven tanto dentro como alrededor de zonas encharcadas o con cursos de agua permanentes (pozos, fuentes, represas, lagos, pantanos, ríos, etc.), así como en entornos con vegetales húmedos o en proximidad de bebederos, zonas periódicamente inundadas, acequias, zanjas, etc. En esos lugares y con temperatura adecuada llegan a ser enormemente prolíficos, puesto que en condiciones óptimas, un caracol puede producir hasta 100.000 caracoles en un sólo año (Malek, 1985)

No todas las especies de Lymnaeidos son igualmente susceptibles a *F. hepatica*, susceptibilidad que dependerá de factores ambientales de cada región, estado nutricional, tamaño, madurez sexual, entre otros (Mattos y Ueno, 1986; Minchella et al, 1985). El éxito de la infección de un trematodo a un caracol de agua dulce depende de al menos tres factores principales: la edad del caracol en la exposición, la temperatura del agua en donde se localizan los caracoles, y la nutrición del caracol (Abrous et al., 2001).

El contacto directo con los animales al compartir hábitats similares, los lugares encharcados y la formación de zonas fangosas, pueden provocar la extensión de los Lymnaeidos, dispersándolos a otros lugares entre las patas de los animales, introduciéndose así de manera accidental donde no es habitual encontrarlos, esto es lo que muy probablemente ha sucedido y se ha analizado en zonas de Bolivia (Mas-Coma et al., 1999b). Probablemente en Cajamarca haya ocurrido una situación similar, identificándose molecularmente la presencia de tres especies de Lymnaeidos morfológicamente similares, pertenecientes al grupo *Galba* / *Fossaria*: *Galba truncatula*, *L. neotropica* y *L. schirazensis*, siendo la más abundante *Galba truncatula* (Bargues et al., 2012).

2.3 Definición de términos básicos

Epidemiología: Disciplina científica del campo de la salud colectiva, cuyas funciones políticas son la mejora de la calidad de vida y la búsqueda de la equidad en salud; y cuyas funciones científicas principales son proporcionar bases científicas para la prevención de problemas de salud; determinar la importancia relativa de los factores y circunstancias que producen las

enfermedades y el daño a la salud; identificar situaciones de riesgo y vulnerabilidad a los agravios a la salud y evaluar la efectividad de programas, productos y prácticas en la promoción y la recuperación de la salud (Almeida et al., 1998).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis:

Existen características ecológicas y moleculares que influyen en la abundancia y dinámica poblacional de los Lymnaeidos hospederos intermediarios de la *Fasciola hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú.

3.2 Tipo y descripción del diseño de contrastación de la hipótesis.

Se utilizó un diseño de nivel descriptivo y longitudinal, consistente en la recolección de los moluscos hospederos intermediarios de *F. hepatica* en canales de regadío de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, realizando análisis fisicoquímicos del agua, midiendo la humedad, temperatura y precipitaciones, latitud y altitud; además, se realizó la caracterización molecular de los moluscos por PCR convencional.

3.2.1 Localización:

La recolección de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* y de las muestras de agua se realizaron en 15 canales de regadío:

Siete canales de regadío ubicados en la provincia de Cajamarca: Distrito Baños del Inca, caserío Tartar Chico (canal Tartar) y caserío La Victoria (canal Santa Rita); distrito de Llacanora, caserío el Llimbe (canal Oritopuquio) y caserío Huayrapongo grande (canal Huayrapongo grande); distrito de Namora (canal de la Dirección

Regional de la Producción); distrito de Matara, caserío Pampa Larga (Canal Pampa Larga) y caserío Tinajones Bajo-Laparpuquio (quebrada La Matadora). Cinco canales de regadío ubicados en la provincia de San Marcos: Distrito Gregorio Pita, caserío Sondor (canal Sondor) y caserío La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel); Distrito Pedro Gálvez, caserío Chuquiamo (canal Chuquiamo) y caserío Rancho Grande (canal Rancho Grande); Distrito Eduardo Villanueva, caserío Colpón (canal Colpón); Y tres canales de regadío ubicados en la provincia de Cajabamba: Distrito de Cachachi, caseríos Cholocal y El Olivo; y Distrito de Sitacocha, caserío El Tingo.

Los datos de la temperatura, humedad y precipitación del ambiente fueron obtenidos de SENAMHI Cajamarca. Las características fisicoquímicas de las muestras de agua recolectadas se determinaron en el laboratorio de la Planta de Tratamiento de agua potable Santa Apolonia y El Milagro - SEDACAJ. La identificación por PCR convencional del ADN de los caracoles se realizó en el Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Cajamarca, Provincia de Cajamarca-Perú. La purificación, secuenciamiento y alineamiento se realizó en Humanizing Genomics Macrogen-Korea.

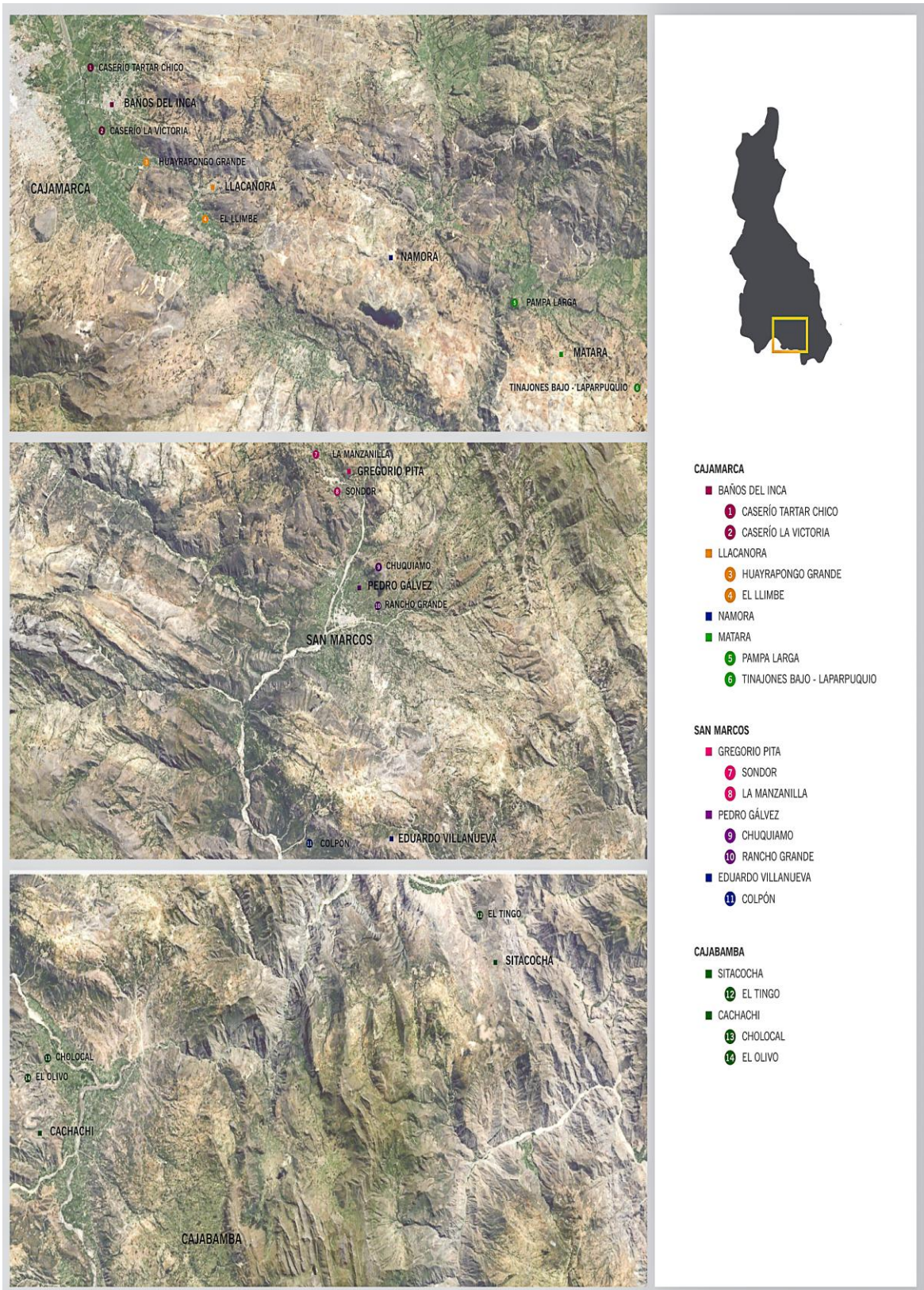


Figura 1. Distribución geográfica de los lugares de recolección de Lymnaeidos. Mapas que muestran la ubicación de la ruta de muestreo en las Provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba - Perú.

3.2.2 Unidad de análisis, universo y muestra.

La unidad de análisis estuvo constituida por moluscos hospederos intermediarios de *F. hepatica*, para ser caracterizados molecularmente por PCR convencional; y por muestras de agua de los lugares de recolección para analizar sus características fisicoquímicas. El estudio se llevó a cabo durante 4 estaciones: invierno (setiembre), primavera (noviembre) en el año 2015, verano (marzo) y otoño (mayo) en el año 2016.

3.3 Diseño experimental

3.3.1 Registro de recolección.

Para la identificación de las muestras y registro de las condiciones de muestreo se rotularon los frascos en donde se colectaron los caracoles y el agua fresca de las zonas de estudio, con el nombre y el código del sitio de muestreo. Se manejó un registro en donde se consignaron datos como el nombre del caserío, códigos de las muestras, fecha y hora de recolección, longitud, latitud, altitud, temperatura, humedad y precipitación, cantidad de caracoles por metro cuadrado, recolector y colaboradores, y cualquier observación que contribuyó a esclarecer las condiciones de las muestras.

3.3.2 Obtención de los caracoles Lymnaeidos.

Los caracoles se recolectaron utilizando el método de captura por remoción (Rabinovich, 1980), en aproximadamente un área de un metro cuadrado de las acequias de regadío de los puntos señalados líneas arriba en el acápite localización, desde el fondo hasta la superficie, en los bordes y en el centro de los canales, sobre y

debajo de las piedras, en la vegetación presente en los puntos de recolección, utilizando un colador de malla de plástico, guantes y frascos con tapa rosca debidamente rotulados. El tiempo de recolección fue de aproximadamente 30 minutos por punto y con ayuda de dos colaboradores. Cuando los canales se secaron se buscó en la superficie y en el fondo del canal haciendo pequeños agujeros de aproximadamente 20 cm de profundidad, revisando con minuciosidad el lugar, según lo propuesto por Prepelitchi (2009). Posteriormente los caracoles fueron llevados al laboratorio para ser contados y lavados con agua potable. Luego se midió la longitud de su concha con una regla milimetrada, después fueron conservados en alcohol de 96°, hasta su identificación por PCR convencional. La recolección se llevó a cabo durante cuatro estaciones, dos del año 2015: invierno y primavera, y dos del año 2016: verano y otoño.

Para la recolección de los moluscos se tomaron los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión: Caracoles con la concha dextrógira, con abertura hacia la derecha, y con un tamaño entre 5 - 20 mm (Oscoz et al., 2012) y recolectados durante cuatro estaciones de los años 2015 y 2016 (invierno - setiembre, primavera - noviembre, verano – marzo y otoño – mayo)
- Criterios de exclusión: Aquellos caracoles con la concha levógira y que no cumplieron con todos los criterios de inclusión.



Figura 2. Canales de regadío de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba en donde se tomaron las muestras de agua y se recolectaron los caracoles Lymnaeidos.

A: recolección de caracoles en el canal de regadío por metro cuadrado; **B:** caracoles Lymnaeidos ubicados entre el barro y bajo las hojas de berros; **C:** moluscos encontrados sobre las piedras húmedas; **D:** recolección del agua de los canales en donde se encontraron caracoles Lymnaeidos.

3.3.3 Obtención de las muestras de agua.

Las muestras se recolectaron en frascos de vidrio de 500 mL con tapa hermética, se enjuagaron de 2 a 3 veces con el agua a analizar y finalmente se llenaron y taparon, asegurándose que no haya presencia de aire; luego fueron almacenadas en un “cooler” para su traslado al laboratorio de las Plantas de Tratamiento de Agua Potable Santa Apolonia y el Milagro – SEDACAJ, para el análisis correspondiente.

Para la recolección de las muestras de agua se tomaron los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión: Muestras de agua de canales de regadío de donde se recolectaron los caracoles obtenidos durante las estaciones de invierno

(setiembre), primavera (noviembre), verano (marzo) y otoño (mayo) de los años 2015-2016, respectivamente.

- Criterios de exclusión: Aquellas muestras que no cumplieron con los criterios de inclusión.

3.3.4 Estudios geográficos.

Se cubrió un área suficientemente amplia para asegurar que la zona endémica completa haya sido incluida. Los límites geográficos cubiertos están señalados en el acápite Localización.

3.3.5 Medición de altitud y latitud.

Las mediciones de altitud y latitud se realizaron con ayuda de un GPS Etrex 10, y se anotaron en el registro de recolección de datos.

3.3.6 Medida de la precipitación, temperatura y humedad.

Estos datos fueron obtenidos de la página web del SENHAMI, de la cual se tomó la información de las precipitaciones, temperatura y humedad de los días de recolección de los caracoles y de las muestras de agua (ver tablas 1, 5, 9 y 13), realizando el análisis correspondiente para obtener promedios de las medidas publicadas (http://www.senamhi.gob.pe/main_mapa.php?t=dHi).

3.3.7 Características fisicoquímicas de las muestras de agua.

Se analizaron las características fisicoquímicas de cada muestra de agua fresca de los lugares de recolección de los caracoles (Giménez et al., 2014), empleando métodos estandarizados para análisis de aguas (Standard Methods for the Examination

of Water and Wasterwater, 1998; Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 1995; Procedimientos simplificados para el examen de aguas: Manual de laboratorio, 1992).

- **Temperatura:** con un termómetro digital con un rango de medición entre -10 °C a +100 °C y 0,1 °C de precisión. Se introdujo el termómetro en la muestra de agua de donde se recolectaron los caracoles y se observó el valor numérico correspondiente.
- **pH:** Se dejó la muestra a temperatura ambiental en el laboratorio y se determinó el pH con la mayor brevedad posible con un pHmetro digital con un rango de medición entre 0 y 14 y una precisión de 0,1. Se conectó el aparato, se introdujo el electrodo en la muestra de agua, se agitó suavemente para garantizar su homogeneidad y facilitar el equilibrio entre electrodo y muestra, se presionó el botón de medida para proceder a la lectura correspondiente. La agitación fue suave para minimizar entrada de dióxido de carbono que pudiera alterar el resultado. Los resultados se obtuvieron directamente de la pantalla del equipo y se expresaron con dos cifras decimales.
- **Conductividad eléctrica:** Para medir la conductividad eléctrica se utilizó un conductímetro digital portátil. Se efectuó la medición sumergiendo el sensor de temperatura y sensor de conductividad dentro de un vaso de 200 mL que contenía la muestra de agua. Se agitó el sensor en el fondo del vaso para estar seguro de que no haya burbujas de aire atrapadas cerca del electrodo. Se dejó pasar aproximadamente 10 segundos para que la celda se estabilice antes de tomar la lectura; se leyó la conductividad en $1\mu\text{S}/\text{cm}$ ($\mu\text{mhos}/\text{cm}$). Se enjuagó

el sensor con abundante agua destilada tratando de que el agua pase por el orificio del sensor (Standar Methods for the Water and Wasterwater, 1995).

- **Turbiedad (Método nefelométrico):** Primero se ajustó el indicador de la escala del turbidímetro en el rango de turbiedad en el que se pudo medir con mayor precisión la muestra. Se agitó la muestra y se transfirió una porción de esta a uno de los tubos de vidrio, asegurándose de que esté completamente limpio. Se colocó el tubo con la muestra en la celda de medición y se anotó la lectura de la pantalla del equipo en la escala utilizada (Procedimientos simplificados para el examen de aguas: Manual de laboratorio, 1992).
- **Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 (DBO5):** Las muestras fueron almacenadas a menos de 4 °C para reducir el cambio en la DBO que pudo ocurrir entre el muestreo y la prueba. Se dio inicio a la incubación no más de 6 horas después que la muestra fue recolectada. Se preparó el agua de dilución de la siguiente manera: Se midió el volumen de agua destilada necesaria para realizar el análisis de DBO (10 a 20 L aprox.) en un frasco adecuado con una entrada de aire de una fuente de aire comprimido para mantener el agua saturada de oxígeno disuelto. La temperatura de ésta agua fue de 20 °C ± 1. Se adicionó 1 mL de cada una de las siguientes soluciones por litro de agua destilada: Solución amortiguadora, solución de sulfato de magnesio, solución de cloruro de calcio.

Para el pre tratamiento de las muestras, según el pH de las muestras, se neutralizó aproximadamente a pH 7 con H₂SO₄ 1 N ó NaOH 1 N.

Se llevaron las muestras a 20 ± 1 °C antes de hacer las diluciones. Se realizó la técnica de dilución que dio lugar a un contenido de oxígeno disuelto residual

de al menos 1 mg/L ó 2 mg/L; después de 5 días de incubación, esto produjo resultados más fiables. Se hicieron varias diluciones de las muestras preparadas para obtener un contenido de oxígeno disuelto en dicho intervalo. Se utilizó la dilución 25 al 100 %. En frascos de 1 L se añadió agua de dilución hasta la mitad sin arrastre de aire. Se añadió la cantidad apropiada de muestra y se diluyó hasta el nivel apropiado con agua de dilución, mezclándose para evitar la entrada de aire; se introdujo luego rápidamente la solución mezclada en tres frascos de DBO mediante un embudo de tres huecos hasta rebosar. Se taparon los frascos herméticamente mediante un sello hidráulico.

Para la Determinación del Oxígeno Disuelto se realizaron las mediciones de oxígeno en uno de los tres frascos sembrados y se incubaron los otros dos frascos a 20 ± 1 °C por cinco días. Se realizó un blanco de agua de dilución; el oxígeno consumido por el blanco debió ser 0.2 mg/L como máximo. Al cabo de cinco días de incubación se realizó la medición de las muestras y sus duplicados. El electrodo de membrana calibrado y chequeado se colocó dentro del embudo protector y dentro del frasco de DBO con muestra y se realizó la lectura de la muestra.

La DBO se calculó a partir del consumo de oxígeno de la muestra y del agua de dilución. El consumo de oxígeno se calculó restando el oxígeno disuelto (OD) inicial menos el OD promedio final de la siguiente manera:

$$\text{OD inicial-OD final= Consumo de oxígeno}$$

La DBO se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{DBO (mg/L)= (A-(1-p)*(B))/P}$$

Donde:

A= Consumo de oxígeno de muestra diluida luego de 5 días (mg/L)

B= Consumo de oxígeno del agua de dilución luego de 5 días (mg/L)

p= Dilución expresada en porcentaje

(Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater, 1995).

- **Sólidos en suspensión:** Se preparó el filtro de fibra de vidrio:

Se alistó la estufa a una temperatura entre 103 a 105° C. Empleando grafito, se marcó el filtro de forma inequívoca (mediante numeración consecutiva).

Se colocó el filtro (con la cara rugosa hacia arriba), en el equipo de filtración, se aplicó vacío y se lavó el filtro con 3 porciones sucesivas de 20 mL de agua destilada. Se mantuvo la filtración hasta la remoción total de las trazas de agua y se desechó el filtrado.

Se retiró el filtro, se colocó en un papel de aluminio y se secó en estufa a 103-105°C durante una hora.

Se dejó enfriar en el desecador hasta su empleo, se pesó el filtro y se registraron los datos. Se anotó el peso del filtro (peso A).

Análisis de la muestra: Se esperó a que la muestra se encuentre a temperatura ambiente. En función del aspecto de la muestra, se seleccionó el volumen a filtrar. Se tomó el filtro previamente tarado del desecador y se llevó al equipo de filtración para iniciar la succión. Se agitó la muestra adecuadamente y se depositó el volumen seleccionado sobre el filtro. Una vez que la muestra se terminó de filtrar, se lavó 3 veces sucesivas con volúmenes de 10 mL de agua destilada dejando secar entre lavados. Se retiró el filtro y se llevó al papel de

aluminio (el mismo donde se guardó en el desecador) y se secó en la estufa a 103-105°C durante una hora. Se enfrió en desecador, se pesó el filtro y se registraron los datos. Se anotaron los pesos del filtro (peso B).

Para calcular y presentar los resultados se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{mg sólidos suspendidos totales/L} = [(B-A) * 1000] / \text{volumen muestra (mL)}$$

Donde:

A: peso del filtro seco antes de la filtración (en mg)

B: peso del filtro + residuo seco (en mg)

En ambos casos, se empleó el promedio de los dos valores que cumplieron el requisito de peso constante antes enunciado.

- **Sulfatos:** Para la determinación de sulfatos en las muestras se transfirió 50 mL a un vaso de precipitados de 100 mL, se adicionaron 2.5 mL de solución amortiguadora y se agitó; luego se adicionó 0,2 g de cloruro de bario y se agitó nuevamente en forma vigorosa durante 1 minuto. La lectura se realizó antes de 5 minutos en espectrofotómetro a 420 nm con celdas de 1 cm de paso óptico respecto a la curva de calibración de sulfato.

En función del espectrofotómetro utilizado, el resultado se obtuvo directamente en la curva de calibración del equipo. Se expresó con una cifra decimal.

- **Nitritos:** Se preparó la curva de calibración pipeteando volúmenes crecientes de la solución patrón o de la solución intermedia de nitritos y se completó a volumen con agua destilada para obtener al menos seis concentraciones comprendidas en el rango 0.000- 0.200 mg/L. Se transfirieron los estándares anteriores a vasos de precipitado de 100 mL, luego se añadieron 2 mL de reactivo de Zambelli, se agitó para mezclar bien y esperar 2 minutos. Posteriormente se añadieron 2 mL de amoníaco y se agitaron. Se leyó inmediatamente en espectrofotómetro a 425 nm con cubetas de paso óptico de 1 ó 5 cm. Se verificó la validez de la curva de calibración, en este caso, preparando un estándar de concentración 0.050 mg/L y se leyó como si fuera una muestra. Si el resultado fue coincidente $\pm 10 \%$, se consideró que la curva fue válida y se procedió a preparar y leer las muestras. Para la determinación de nitritos en las muestras se transfirieron 50 mL de muestra (previamente filtrada por membrana de 0.45 μm o sometida a centrifugación, en caso de ser necesario por presentar alta turbiedad), a un vaso de precipitados de 100 mL, se adicionó 2 mL de reactivo de Zambelli, se agitó para mezclar bien y se esperaron 2 minutos. Luego se añadieron 2 mL de amoníaco y se agitó y esperó 5 minutos. Se preparó y analizó un blanco de reactivos con agua bidestilada. Posteriormente se procedió a realizar las lecturas correspondientes en espectrofotómetro a 425 nm con cubetas de paso óptico de 1cm respecto a la curva de calibración de nitritos. Los resultados se obtuvieron directamente en la curva de calibración del espectrofotómetro y se expresaron con tres cifras decimales.

- **Nitratos:** Se preparó una curva de calibración en frascos volumétricos de 50 mL, pipeteando volúmenes crecientes de la solución intermedia de nitrato y enrasando con agua para obtener al menos seis concentraciones comprendidas en el intervalo 0-7 mg/L N-NO₃, el cual equivale a 0 a 31 mg NO₃/L. Se trasvasó a vasos de precipitado de 100 mL, se añadió 1 mL de HCl 1 N y se agitó. Se transfirió a cubetas de paso óptico de 1 cm y se leyó en el espectrofotómetro las absorbancias a 220 nm, se verificó la validez de la curva de calibración preparando y analizando un blanco de reactivos con agua para ajustar el cero del equipo; se analizó como si fuera muestra, un patrón de 1 mg/L N-NO₃ equivalente a 4.43 mg/L NO₃. Si el resultado fue coincidente \pm 10 %, se consideró a la curva como válida y se procedió a preparar y leer las muestras.

Para la determinación de nitratos en muestras, primero se dejaron estabilizar a temperatura ambiente, luego se transfirió 50 mL de muestra (previamente filtrada por membrana de 0.45 μ m o sometida a centrifugación, en caso de ser necesario por presentar alta turbiedad) y a un vaso de precipitados de 100 mL, se adicionó 1 mL de HCl 1N y se agitó para mezclar bien. Se transfirió a cubetas de paso óptico de 1 cm y se leyeron en el espectrofotómetro las absorbancias a 220 nm; la absorbancia obtenida correspondió a la del nitrato en la muestra.

Para reportar la concentración en mg/L NO₃, se multiplicó el resultado por 4.43.

Los resultados se expresaron con dos cifras significativas.

- **Espectrofotometría de emisión de llama para Sodio, Potasio, Calcio y Magnesio.**

➤ **Preparación de los estándares de medición para Sodio**

A partir de un estándar certificado de 1000 mg/L (estándar para cada metal), se prepararon diluciones de 2, 5 y 10 mg/L en fioles, clase A:

1° Se preparó el estándar intermedio de 100 mg/L, haciendo uso de la ecuación de dilución:

$$C1*V1=C2*V2$$

- $1000\text{mg/L} * V = 100\text{mg/L} * 100\text{ mL}$

$V = 10\text{ mL}$ del estándar de 1000 mg/L.

2° Se prepararon los estándares de la curva de calibración (diluciones de 2, 5 y 10 mg/L):

- $100\text{ mg/L} * V = 2\text{ mg/L} * 100\text{ mL}$

$V = 2\text{ mL}$

- $100\text{ mg/L} * V = 5\text{ mg/L} * 100\text{ mL}$

$V = 5\text{ mL}$

- $100\text{ mg/L} * V = 10\text{ mg/L} * 100\text{ mL}$

$V = 10\text{ mL}$

➤ **Preparación de los estándares de medición para Potasio**

A partir de un estándar certificado de 1000 mg/L (estándar para cada metal), se prepararon diluciones de 2, 5 y 10 mg/L en fioles, clase A:

1° Se preparó el estándar intermedio de 100 mg/L, haciendo uso de la ecuación de dilución:

$$C1*V1=C2*V2$$

- $1000\text{mg/L} * V = 100\text{mg/L} * 100\text{ mL}$

$V = 10\text{ mL}$ del estándar de 1000 mg/L.

2° Se prepararon los estándares de la curva de calibración (diluciones de 2, 5 y 10 mg/L):

- $100\text{ mg/L} * V = 2\text{ mg/L} * 100\text{ mL}$

$$V = 2\text{ mL}$$

- $100\text{ mg/L} * V = 5\text{ mg/L} * 100\text{ mL}$

$$V = 5\text{ mL}$$

- $100\text{ mg/L} * V = 10\text{ mg/L} * 100\text{ mL}$

$$V = 10\text{ mL}$$

3° En base a los estándares se elaboró la curva de calibración.

4° Por cada fiola de 100 mL se agregó 1 mL de ácido nítrico concentrado ultrapuro y 2.5 mL de solución de carbonato de calcio para ampliar el tiempo de duración del estándar.

➤ **Preparación de los estándares de medición para Calcio**

1° A partir de un estándar certificado de 1000 mg/L (estándar para cada metal), se prepararon diluciones de 50, 100 y 200 mg/L en fiolas, clase A:

$$C1*V1=C2*V2$$

- $1000\text{mg/L} * V = 50 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$

$$V = 5 \text{ mL}$$

- $1000 \text{ mg/L} * V = 100 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$

$$V = 10 \text{ mL}$$

- $1000 \text{ mg/L} * V = 200 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$

$$V = 20 \text{ mL}$$

➤ **Preparación de los estándares de medición para Magnesio**

A partir de un estándar certificado de 1000 mg/L (estándar para cada metal), se prepararon diluciones de 2, 5 y 10 mg/L en fioas, clase A:

1° Se preparó el estándar intermedio de 100 mg/L, haciendo uso de la ecuación de dilución:

$$C1*V1=C2*V2$$

- $1000\text{mg/L} * V = 100\text{mg/L} * 100 \text{ mL}$

$V = 10 \text{ mL}$ del estándar de 1000 mg/L.

2° Se prepararon los estándares de la curva de calibración (diluciones de 2, 5 y 10 mg/L):

- $100 \text{ mg/L} * V = 2 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$

$$V = 2 \text{ mL}$$

- $100 \text{ mg/L} * V = 5 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$

$$V = 5 \text{ mL}$$

- $100 \text{ mg/L} * V = 10 \text{ mg/L} * 100 \text{ mL}$

$$V = 10 \text{ mL}$$

➤ **Digestión de la muestra:** En un vaso de 25 mL se midió 100 mL de la muestra a analizar, se agregó 2 mL de HNO₃ para analizar trazas, se cubrió con una lámina de reloj y se colocó sobre una plancha caliente para su evaporación a una temperatura de 80° aproximadamente.

Se dejó reducir el volumen de la alícuota hasta obtener 20 mL aproximadamente, a temperatura moderada, evitando la ebullición. Se dejó cubierto el vaso para evitar que se siga evaporando la muestra por 30 minutos más para completar la digestión, evitando que llegue a sequedad.

Se dejó enfriar y se lavó bien el vaso con agua ultrapura. Al término de la digestión, se obtuvo un sedimento blanco y solución transparente, se filtró con papel de filtro Whatman 41, se transfirió el filtrado a una fiola de 100 mL, enrasando con agua ultrapura agitando vigorosamente.

Se preparó un blanco reactivo usando agua ultrapura, siguiendo el mismo procedimiento que las muestras.

Se preparó un estándar de referencia usando agua ultrapura, adicionándole una alícuota de cada concentración del estándar, luego se analizó como una muestra.

Se preparó una muestra más estándar, para el cual se midió 100 mL de muestra y se adicionó una alícuota de cada concentración del estándar de cada metal a medir, luego se analizó como una muestra.

➤ **Espectrofotómetro de absorción atómica Varian 220** (Londoño et al., 2010): El equipo de espectrofotometría atómica de llama estuvo conformado por una fuente de luz (lámpara de cátodo hueco), el sistema de atomización (llama), monocromador, detector, registrador y procesador de la muestra.

La muestra en solución fue aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador para ser convertida en aerosol fino e introducida dentro de la llama, en donde fue desolvatada, vaporizada y atomizada, todo esto en rápida sección. Subsecuentemente, los átomos y las moléculas se elevaron a estados excitados por colisiones térmicas con los constituyentes de los componentes de la llama parcialmente quemados.

Durante su regreso a un estado electrónico basal o más bajo, los átomos y las moléculas emitieron la radiación característica de los componentes de la muestra. La luz emitida pasó por un monocromador que aisló la longitud específica para el análisis deseado.

Un fotoelectrón midió la potencia radiante de la radiación seleccionada, que fue amplificada y enviada a un dispositivo de lectura medido en una computadora. Finalizado el análisis se obtuvo el reporte de las mediciones.

Este proceso fue utilizado para hacer la medida, de la concentración menor a la mayor, de las absorbancias del blanco y de los estándares, para hacer la curva de calibración; y para medir las absorbancias del blanco reactivo, blanco fortificado y de las muestras.

La concentración del elemento medido en las muestras se expresó en mg/L.

3.3.8 Identificación molecular de caracoles Lymnaeidos

La identificación molecular de los caracoles se realizó mediante la secuenciación de ADN, por lo que se tomaron en cuenta los siguientes pasos (Maniatis et al., 1982, Bargues et al., 2007; Bargues et al., 2011):

- **Digestión de las muestras de caracoles:** Se retiraron los especímenes conservados en alcohol de 96°, se separó el pie de los caracoles con ayuda de una aguja hipodérmica, luego se procedió a lavar con agua destilada y los pies se trituraron con ayuda de una hoja de bisturí sobre un papel aluminio. El triturado fue colocado en microtubos de 1.5 mL, se agregó 500 µL de agua ultrapura y 1 mL de buffer de lisis y se homogenizó en vórtex por 20 segundos. Se centrifugó el homogenizado a 14 000 rpm en centrífuga con refrigerante por 5 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se descartó el sobrenadante, dejando solo 50 µL del contenido por encima del precipitado (pellet). Se agregó 0.5 mL de buffer de lisis y mezclamos por inversión aproximadamente 50 veces. Se adicionó 20 µL de β – mercapto etanol y 10 µL de proteinasa K. Se llevó a incubar durante toda la noche en Baño María a 56° C, agitando periódicamente.
- **Extracción de ADN:** A la muestra ya digerida se le agregó 500 µL de la mezcla fenol/cloroformo/isoamílico en proporciones de 25:24:1, se agitó con la ayuda del vórtex por 15 segundos. Se centrifugó a 14 000 rpm por 5 minutos a 18°C para

separar las fases. Se transfirió la fase acuosa (sobrenadante) a otro microtubo, evitando pipetear la interface. Se agregó 600 µL de isopropanol al 100 % a temperatura ambiente, luego se llevó a agitar con ayuda del vórtex. Se centrifugó a 14 000 rpm por 15 minutos a 18° C para obtener el pellet de ADN y se descartó el sobrenadante. Se agregó 1 mL de etanol al 70 % a temperatura ambiente para lavar el pellet, se centrifugó a 14 000 rpm en la centrífuga con refrigerante por 5 minutos, se descartó el sobrenadante y se repitió el lavado 2 veces más. Se secó el pellet en estufa a 37 °C por 1 hora aproximadamente hasta que no queden restos de etanol en el tubo. Posteriormente se resuspendió el ADN con 50 µL de agua ultrapura y se incubó a 37 °C por 30 minutos en Baño María. La suspensión se almacenó a -20 ° C hasta su uso (Bargues et al., 2012).

- **Amplificación por PCR convencional:** Para la identificación de los caracoles se usó el ADN ribosomal amplificado con primer ITS-2 invitrogen™ (Bargues et al., 2012), como se detalla a continuación:

Para un volumen final de 50 µL se preparó el mix constituido por 33,5 µL de agua ultrapura, 5 µL buffer de ADN, 4 µL de MgSO₄, 4µL de dNTPs, 1 µL de ITS2-F (5'-TGT GTC GAT GAA GAG CGC AG-3'), 1 µL de ITS2-R (5'-TGG TTA GTT TCT TTT CCT CCG C-3'), 1 µL del ADN en estudio y 0,5 µL de la KOD Hot Start polymerasa. Las muestras fueron colocadas en el termociclador Bio-Rad modelo T100 bajo las siguientes condiciones: durante 35 ciclos, un primer ciclo de desnaturalización a 95 °C por 2 minutos, un segundo 94 °C por dos minutos y un último ciclo por 56 °C por 20 segundos y 72°C por 1 min. Las muestras se mantuvieron a 4 °C hasta la verificación de los productos obtenidos por electroforesis.

Se verificaron los productos de PCR en Gel de Agarosa al 1% con tinción de Sybersafe, usando como marcador Gen Ruler 100 bp ADN ladder (Thermo Scientific).

Los geles de PCR fueron fotografiados y analizados con el software GelAnalyzer 2010®, donde se introdujeron los valores del marcador de peso molecular, luego se obtuvieron los pesos aproximados de los amplicones obtenidos.

Las muestras de ADN fueron enviadas a purificar, secuenciar y alinear en Humanizing Genomics Macrogen - Korea.

3.4 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico descriptivo se utilizó la distribución de frecuencias, medidas descriptivas (media aritmética y varianza), tablas y figuras estadísticas y para el análisis inferencial se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA), con 0,05 de nivel de significancia.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 1. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Estación de invierno (2015).

Provincia	Caseríos	Latitud (S)	Longitud (W)	Altitud	Fecha de recolección	Estación	Promedio Temperatura ambiental Max (°C)	Promedio Temperatura ambiental Min (°C)	Humedad Relativa (%)	Precipitación (mm) (medidas de toma de muestra 7:00 p.m. y 7:00 a.m. del día siguiente)
Cajamarca	Pampa Larga	S07°14'28.8"	W078°15'51.2"	2776 msnm	11-sep	Invierno	24.4	7	48	0
	Huayrapongo Grande	S07°11'00.1"	W078°26'48.8"	2627 msnm	22-sep	Invierno	23.1	11.1	51	0
	La Victoria (canal Santa Rita)	S07°07'42.6"	W078°26'54.1"	2737 msnm	21-sep	Invierno	22.2	5.4	53	0
	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	S07°15'34.8"	W078°13'20.8"	2840 msnm	19-sep	Invierno	24	8.2	49	0
	El Llimbe (canal Ocoruro)	S07°12'15.6"	W078°23'35.2"	2871 msnm	19-sep	Invierno	24	8.2	49	0
	Tartar chico (Canal Remonta II)	S07°09'05.1"	W078°27'41.8"	2706 msnm	21-sep	Invierno	22.2	5.4	53	0
	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)	S07°12'05.9"	W078°19'15.9"	2729 msnm	11-sep	Invierno	24.4	7	48	0
San Marcos	La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	S07°15'32.0"	W078°12'07.7"	3091 msnm	19-sep	Invierno	27.3	10.6	53	0
	Rancho Grande	S07°20'06.3"	W078°01'34.8"	3473 msnm	12-sep	Invierno	26.7	7.9	55	0
	Chuquiamo	S07°19'05.0"	W078°09'44.1"	2344 msnm	12-sep	Invierno	26.7	7.9	55	0
	Sondor	S07°13'32.0"	W078°13'47.1"	2872 msnm	19-sep	Invierno	27.3	10.6	53	0
	Colpón	S07°26'18.0"	W078°10'52.7"	2043 msnm	14-sep	Invierno	25.6	11.6	54	0
Cajabamba	Cholocal	S07°28'35.9"	W078°10'13.8"	2010 msnm	12-sep	Invierno	26.8	9.8	49	0
	El Olivo	S07°28'27.3"	W078°09'22.1"	2022 msnm	12-sep	Invierno	26.8	9.8	49	0
	El Tingo	S07°28'15.1"	W078°07'57.8"	2007 msnm	12-sep	Invierno	26.8	9.8	49	0

La tabla muestra la latitud (S07°07'42.6" a S07°28'35.9"), longitud (W078°01'34.8" a W078°27'41.8"), altitud (2007 a 3473 msnm) de la ubicación de los canales de regadío de donde fueron recolectados los caracoles; asimismo, los días de recolección (mes de setiembre-estación de invierno); temperatura máxima (27.3 °C) y mínima (5.4 °C), humedad relativa (48 a 55%) y precipitación del ambiente (0 mm), datos obtenidos de la base de datos de SENAMHI.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de invierno (2015). Cajamarca.

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos						
			Pampa Larga	Huayrapongo grande	La Victoria (canal Santa Rita)	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal Matadora)	El Llimbe (canal Ocoruro)	Tartar Chico	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)
TURBIEDAD	UNT	0-340	2.74	2.21	1.04	2.59	1.19	0.69	184.00
Ph	--	6,0-9,4	8.67	8.11	8.14	8.16	8.05	8.29	8.33
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	19.5	18.4	17.6	17.7	17.6	17.6	18.6
CONDUCTIVIDAD	µC/cm	40-836	307	303	333	334	8.05	408	128.5
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	28.4	32.1	1.4	16.3	3.26	11.4	51.3
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	3	4	1	2	1	1	8
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)	mg/L	0-80	5	4	1	2	2	2	16.2
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	4	3	3	3	4	2	154
SODIO	mg/L	2,6-120,0	2.86	3.16	1.16	2.85	1.68	2.49	4.89
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.59	1.52	0.71	1.53	0.76	0.94	2.06
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	54.1	42.4	38.6	54.2	54.1	58.6	14.6
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	1.56	1.98	1.89	1.16	2.55	1.46	2.82

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca, estación de invierno. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 3. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de invierno (2015).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos				
			La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	Rancho grande	Juquit - Chuquiamo	Sondor	Colpón
TURBIEDAD	UNT	0-340	0.33	6.70	4.17	15.30	1.28
Ph	--	6,0-9,4	7.37	7.95	7.83	7.48	8.29
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	16.8	18.5	18.5	17.4	17.4
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	418	881	274	43.1	376
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	2.48	59.2	39.8	46.4	12.3
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	3	6	6	4	1
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<.01	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	1	6	6	4	2
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	1	5	4	13	3
SODIO	mg/L	2,6-120,0	1.46	4.02	2.52	4.19	3.22
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.38	1.66	2.06	2.06	0.69
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	64.3	198	54.8	24.4	41.2
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	1.89	2.49	2.06	2.56	2.14

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos, estación de invierno. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 4. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de invierno (2015).

Parámetros	Unidades	Rango Óptimo	Caseríos		
			Cholocal	El Olivo	El Tingo
TURBIEDAD	UNT	0-340	3.31	7.25	1.59
Ph	--	6,0-9,4	7.88	8.01	8.22
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	18.4	18.0	18.5
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	732	475	430
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	41.2	42.1	29.4
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	8	6	4
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	4	9	4
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	4	8	2
SODIO	mg/L	2,6-120,0	3.16	4.09	3.46
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.06	1.05	1.59
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	158	62.2	94.2
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	1.94	2.46	2.36

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba, estación de invierno. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 5. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Estación de primavera (2015).

Provincia	Caseríos	Latitud (S)	Longitud (W)	Altitud	Fecha de recolección	Estación	Promedio Temperatura ambiental Max (°C)	Promedio Temperatura ambiental Min (°C)	Humedad Relativa (%)	Precipitación (mm) (medidas de toma de muestra 7:00 p.m. y 7:00 a.m. del día siguiente)
Cajamarca	Pampa Larga	S07°14'28.8"	W078°15'51.2"	2776 msnm	13-nov	primavera	23.4	10	59	-1
	Huayrapongo Grande	S07°11'00.1"	W078°26'48.8"	2627 msnm	18-nov	primavera	22.2	10.8	72	6.2
	La Victoria (canal Santa Rita)	S07°07'42.6"	W078°26'54.1"	2737 msnm	18-nov	primavera	22.2	10.8	72	6.2
	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	S07°15'34.8"	W078°13'20.8"	2840 msnm	13-nov	primavera	23.4	10	59	-1
	El Llimbe (canal Ocoruro)	S07°12'15.6"	W078°23'35.2"	2871 msnm	13-nov	primavera	23.4	10	59	-1
	Tartar chico (Canal Remonta II)	S07°09'05.1"	W078°27'41.8"	2706 msnm	18-nov	primavera	22.2	10.8	72	6.2
	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)	S07°12'05.9"	W078°19'15.9"	2729 msnm	17-nov	primavera	21.8	12.1	75	3.4
San Marcos	La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	S07°15'32.0"	W078°12'07.7"	3091 msnm	17-nov	primavera	26.1	14	80	16.9
	Rancho Grande	S07°20'06.3"	W078°01'34.8"	3473 msnm	14-nov	primavera	27.7	13.7	58	0
	Chuquiamo	S07°19'05.0"	W078°9'44.1"	2344 msnm	14-nov	primavera	27.7	13.7	58	0
	Sondor	S07°13'32.0"	W078°13'47.1"	2872 msnm	17-nov	primavera	26.1	14	80	16.9
	Colpón	S07°26'18.0"	W078°10'52.7"	2043 msnm	14-nov	primavera	27.7	13.7	58	0
Cajabamba	Cholocal	S07°28'35.9"	W078°10'13.8"	2010 msnm	14-nov	primavera	26	13.8	73	1.7
	El Olivo	S07°28'27.3"	W078°09'22.1"	2022 msnm	14-nov	primavera	26	13.8	73	1.7
	El Tingo	S07°28'15.1"	W078°07'57.8"	2007 msnm	14-nov	primavera	26	13.8	73	1.7

La tabla muestra la latitud (S07°07'42.6" a S07°28'35.9"), longitud (W078°01'34.8" a W078°27'41.8"), altitud (2007 a 3473 msnm) de la ubicación de los canales de regadío de donde fueron recolectados los caracoles; igualmente, los días de recolección (mes de noviembre-estación de primavera); temperatura máxima (27.7 °C) y mínima (10 °C), humedad relativa (58 a 80 %) y precipitación del ambiente (-1 a 16.9 mm), datos obtenidos de la base de datos de SENAMHI Cajamarca.

Tabla 6. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de primavera (2015).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos						
			Pampa Larga	Huayrapongo grande	La Victoria (canal Santa Rita)	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	El Llimbe (canal Ocoruro)	Tartar Chico	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)
TURBIEDAD	UNT	0-340	51.90	1.46	2.10	15.10	1.70	3.01	1.49
Ph	--	6,0-9,4	7.27	8.44	6.50	8.04	8.18	8.47	8.13
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	17.8	16.8	16.8	17.8	17.8	16.5	16.7
CONDUCTIVIDAD	µC/cm	40-836	279	363	267	411	284	320	233
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	48.2	1.21	6.8	22.8	24.9	8.2	6.4
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	11	4	3	6	5	4	5
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)	mg/L	0-80	6	3	3	8	3	2	2
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	49	2	2	13	2	2	1
SODIO	mg/L	2,6-120,0	4.06	2.84	2.09	3.01	2.49	2.84	2.12
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	2.13	1.42	1.13	1.96	1.52	1.12	1.91
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	48.4	34.1	38.1	64.2	38.5	42.1	38.2
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.16	1.54	1.72	1.88	1.49	1.49	1.78

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca, estación de primavera. Estos datos son comparados con los rangos fisicoquímicos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *Fasciola hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 7. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de primavera (2015).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos				
			La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	Rancho grande	Juquit – Chuquiamo	Sondor	Colpón
TURBIEDAD	UNT	0-340		6.66	7.83	6.99	5.19
Ph	--	6,0-9,4		8.22	8.02	6.84	8.35
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0		17.9	17.9	16.8	17.9
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836		268	469	95.6	461
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3		31.6	44.2	12.4	26.7
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50		5	6	6	5
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	No se encontró agua en esta estación.	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80		4	9	4	6
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380		5	6	5	4
SODIO	mg/L	2,6-120,0		3.46	2.46	1.94	2.56
POTASIO	mg/L	1,7-160,0		2.04	1.08	1.46	1.42
CALCIO	mg/L	2,6-94,6		28.5	58.6	26.2	74.1
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9		1.82	2.46	2.04	2.41

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos, estación de primavera. En esta estación no se obtuvo muestra de agua en el canal de regadío del caserío de la Manzanilla. Los datos obtenidos fueron comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 8. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de primavera (2015).

Parámetros	Unidades	Rango Óptimo	Caseríos		
			Cholocal	El Olivo	El Tingo
TURBIEDAD	UNT	0-340	8.30	4.29	26.10
Ph	--	6,0-9,4	8.02	8.58	8.49
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	17.8	18.0	18.0
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	574	442	467
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	31.6	39.3	39.1
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	8	3	8
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	5	6	12
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	7	3	23
SODIO	mg/L	2,6-120,0	4.12	2.46	3.16
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	2.08	1.44	1.84
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	62.4	46.4	56.2
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.89	2.11	2.09

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba, estación de primavera. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 9. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Estación de verano (2016).

Provincia	Caseríos	Latitud (S)	Longitud (W)	Altitud	Fecha de recolección	Estación	Promedio Temperatura ambiental Max (°C)	Promedio Temperatura ambiental Min (°C)	Humedad Relativa (%)	Precipitación (mm) (medidas de toma de muestra 7:00 a.m. 7:00 p.m.)
Cajamarca	Pampa Larga	S07°14'28.8"	W078°15'51.2"	2776 msnm	04-mar	Verano	21.2	12	80	1.1
	Huayrapongo Grande	S07°11'00.1"	W078°26'48.8"	2627 msnm	11-mar	Verano	22.4	7.9	68	0
	La Victoria (canal Santa Rita)	S07°07'42.6"	W078°26'54.1"	2737 msnm	11-mar	Verano	22.4	7.9	68	0
	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	S07°15'34.8"	W078°13'20.8"	2840 msnm	04-mar	Verano	21.2	12	80	1.1
	El Llimbe (canal Ocoruro)	S07°12'15.6"	W078°23'35.2"	2871 msnm	04-mar	Verano	21.2	12	80	1.1
	Tartar chico (Canal Remonta II)	S07°09'05.1"	W078°27'41.8"	2706 msnm	11-mar	Verano	22.4	7.9	68	0
	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)	S07°12'05.9"	W078°19'15.9"	2729 msnm	17-mar	Verano	24.1	9.2	65	0
San Marcos	La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	S07°15'32.0"	W078°12'07.7"	3091 msnm	03-mar	Verano	26.2	15.4	73	3.4
	Rancho Grande	S07°20'06.3"	W078°01'34.8"	3473 msnm	03-mar	Verano	26.2	15.4	73	3.4
	Chuquiamo	S07°19'05.0"	W078°9'44.1"	2344 msnm	03-mar	Verano	26.2	15.4	73	3.4
	Sondor	S07°13'32.0"	W078°13'47.1"	2872 msnm	04-may	Verano	25.2	14.4	70	0
	Colpón	S07°26'18.0"	W078°10'52.7"	2043 msnm	03-mar	Verano	26.2	15.4	73	3.4
Cajabamba	Cholocal	S07°28'35.9"	W078°10'13.8"	2010 msnm	03-mar	Verano	24.7	14.6	77	2.6
	El Olivo	S07°28'27.3"	W078°09'22.1"	2022 msnm	03-mar	Verano	24.7	14.6	77	2.6
	El Tingo	S07°28'15.1"	W078°07'57.8"	2007 msnm	03-mar	Verano	24.7	14.6	77	2.6

La tabla muestra la latitud (S07°07'42.6" a S07°28'35.9"), longitud (W078°01'34.8" a W078°27'41.8"), altitud (2007 a 3473 msnm) de la ubicación de los canales de regadío de donde fueron recolectados los caracoles; asimismo, los días de recolección (mes de marzo-estación de verano); temperatura máxima (26.2 °C) y mínima (7.9 °C), humedad relativa (65 a 80 %) y precipitación del ambiente (0 a 3.4 mm), datos obtenidos de la base de datos de SENAMHI Cajamarca.

Tabla 10. Análisis fisicoquímico del agua de los canales de regadío de donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de verano (2016).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos						
			Pampa Larga	Huayrapongo grande	La Victoria (canal Santa Rita)	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	El Llimbe (canal Ocoruro)	Tartar Chico	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)
TURBIEDAD	UNT	0-340	6.61	9.58	10.00	0.66	1.46	15.60	5.48
Ph	--	6,0-9,4	7.85	7.83	7.95	7.95	7.32	7.78	8.45
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	17.6	18.5	17.2	18.7	20.6	17.9	17.3
CONDUCTIVIDAD	µC/cm	40-836	334	322	198	384	250	217	306
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	39.3	42.6	24.3	14.1	19.8	14.3	14.1
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	6	3	3	2	4	4	2
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)	mg/L	0-80	9	5	4	3	6	5	3
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	5	6.4	8.2	1.2	3	11.6	3.6
SODIO	mg/L	2,6-120,0	2.81	3.26	2.06	1.89	2.26	1.12	2.89
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.06	1.33	0.91	0.83	1.53	0.88	1.78
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	54.8	40.3	36.8	44.6	41.4	36.4	46.3
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.24	2.11	1.13	2.51	1.84	1.94	1.94

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca, estación de primavera. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 11. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de verano (2016).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos				
			La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	Rancho grande	Juquit - Chuquiamo	Sondor	Colpón
TURBIEDAD	UNT	0-340	0.61	0.76	1.90	20.20	22.00
pH	--	6,0-9,4	7.31	7.68	8.06	7.19	7.65
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	17.0	22.8	25.8	17.3	20.6
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	423	301	213	66.4	330
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	58.4	33.1	16.1	13.8	52.4
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	1	2	3	5	4
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	3	5	2	6	5
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	2	2	1.4	14.2	17.8
SODIO	mg/L	2,6-120,0	2.06	2.13	2.92	3.56	2.86
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.12	0.94	1.69	2.03	1.54
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	58.6	46.3	48.5	38.6	46.3
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.36	2.19	1.96	3.14	1.82

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos, estación de primavera. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 12. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de verano (2016).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos		
			Cholocal	El Olivo	El Tingo
TURBIEDAD	UNT	0-340	10.40	55.90	13.90
Ph	--	6,0-9,4	7.67	7.65	7.60
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	7.97	8.00	8.19
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	590	367	363
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	96.8	41.9	39.6
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	5	6	4
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	6	8	6
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	8.2	34.1	7.6
SODIO	mg/L	2,6-120,0	2.67	4.19	3.28
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.04	2.04	1.06
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	56.3	44.3	42.8
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.19	2.12	1.89

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba, estación de primavera. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 13. Datos de ubicación y meteorológicos de los lugares de recolección de los moluscos Lymnaeidos. Estación de otoño (2016).

Provincias	Caseríos	Latitud (S)	Longitud (W)	Altitud	Fecha de recolección	Estación	Promedio Temperatura ambiental Max (°C)	Promedio Temperatura ambiental Min (°C)	Humedad Relativa (%)	Precipitación (mm) (medidas de toma de muestra 7:00 a.m. 7:00 p.m.)
Cajamarca	Pampa Larga	S07°14'28.8"	W078°15'51.2"	2776 msnm	31-may	Otoño	23.6	4.7	62	0.1
	Huayrapongo Grande	S07°11'00.1"	W078°26'48.8"	2627 msnm	23-may	Otoño	23.8	8.4	64	0.2
	La Victoria (canal Santa Rita)	S07°07'42.6"	W078°26'54.1"	2737 msnm	22-may	Otoño	22.6	11.3	65	0.1
	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	S07°15'34.8"	W078°13'20.8"	2840 msnm	31-may	Otoño	23.6	4.7	62	0.1
	El Llimbe (canal Ocoruro)	S07°12'15.6"	W078°23'35.2"	2871 msnm	31-may	Otoño	23.6	4.7	62	0.1
	Tartar chico (Canal Remonta II)	S07°09'05.1"	W078°27'41.8"	2706 msnm	23-may	Otoño	23.8	8.4	64	0.2
	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)	S07°12'05.9"	W078°19'15.9"	2729 msnm	31-may	Otoño	23.6	4.7	62	0.1
San Marcos	La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	S07°15'32.0"	W078°12'07.7"	3091 msnm	30-may	Otoño	29.6	7.6	61	0
	Rancho Grande	S07°20'06.3"	W078°01'34.8"	3473 msnm	30-may	Otoño	29.6	7.6	61	0
	Chuquiamo	S07°19'05.0"	W078°9'44.1"	2344 msnm	30-may	Otoño	29.6	7.6	61	0
	Sondor	S07°13'32.0"	W078°13'47.1"	2872 msnm	30-may	Otoño	29.6	7.6	61	0
	Colpón	S07°26'18.0"	W078°10'52.7"	2043 msnm	29-may	Otoño	29.6	8.2	60	0
Cajabamba	Cholocal	S07°28'35.9"	W078°10'13.8"	2010 msnm	31-may	Otoño	26.2	7.7	60	0
	El Olivo	S07°28'27.3"	W078°09'22.1"	2022 msnm	31-may	Otoño	26.2	7.7	60	0
	El Tingo	S07°28'15.1"	W078°07'57.8"	2007 msnm	31-may	Otoño	26.2	7.7	60	0

La tabla muestra la latitud (S07°07'42.6" a S07°28'35.9"), longitud (W078°01'34.8" a W078°27'41.8"), altitud (2007 a 3473 msnm) de la ubicación de los canales de regadío de donde fueron recolectados los caracoles; también los días de recolección (mes de mayo-estación de otoño); temperatura máxima (29.6 °C) y mínima (4.7 °C), humedad relativa (60 a 65 %) y precipitación del ambiente (0 a 0.2 mm), datos obtenidos de la base de datos de SENAMHI Cajamarca.

Tabla 14. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca. Estación de otoño (2016).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos						
			Pampa Larga	Huayrapongo grande	La Victoria (canal Santa Rita)	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	El Llimbe (canal Ocoruro)	Tartar Chico	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)
TURBIEDAD	UNT	0-340	14.20	6.51	1.56	2.01	0.50	1.41	0.77
pH	--	6,0-9,4	7.58	7.67	8.21	7.86	7.99	8.08	8.07
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	18.5	18.6	17.8	16.3	26.1	16.8	20.8
CONDUCTIVIDAD	µC/cm	40-836	969	322	328	424	294	386	153
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	23.3	41.6	24.20	31.6	31.2	19.4	11.6
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	3	2	2	3	3	2	2
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)	mg/L	0-80	6	4	2	2	<1	2	<1
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	12.1	4.1	0.83	1.18	1	0.95	0.32
SODIO	mg/L	2,6-120,0	3.18	3.09	2.13	1.94	2.51	2.46	1.84
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	1.24	2.06	1.65	0.83	0.86	1.22	0.79
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	64.6	35.3	48.3	45.1	41.6	53.1	44.3
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.36	2.58	1.94	2.16	1.22	2.13	1.86

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajamarca, estación de otoño. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 15. Análisis fisicoquímico del agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos. Estación de otoño (2016).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos				
			La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	Rancho grande	Juquit – Chuquiamo	Sondor	Colpón
TURBIEDAD	UNT	0-340	0.87	50.40	163.00	2.67	2.71
Ph	--	6,0-9,4	7.25	8.09	7.23	6.86	7.92
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	22.00	25.30	21.80	24.00	25.40
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	462	315	271	58	456
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	24.6	41.6	25.4	11.3	39.8
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	2	3	4	1	2
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	<1	5	6	1.2	3
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	1	39.3	138	1	1.45
SODIO	mg/L	2,6-120,0	1.13	3.81	3.49	2.26	2.43
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	0.84	2.38	2.16	1.09	1.06
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	45.1	41.5	32.4	18.1	49.1
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	1.59	2.14	2.31	1.47	1.82

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de San Marcos, estación de otoño. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

Tabla 16. Análisis fisicoquímico de las muestras de agua de canales de regadío donde se recolectaron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba. Estación de otoño (2016).

Parámetros	Unidades	Rango óptimo	Caseríos		
			Cholocal	El Olivo	El Tingo
TURBIEDAD	UNT	0-340	3.26	47.60	4.75
Ph	--	6,0-9,4	7.97	8.00	8.19
TEMPERATURA	°C	10,5-28,0	27.3	25.4	27.6
CONDUCTIVIDAD	µS/cm	40-836	648	478	475
SULFATOS	mg/L	0,0-97,3	90.2	51.4	66.3
NITRATOS	mg/L	0,00->0,50	4	3	4
NITRITOS	mg/L	0,000-0,007	<0.1	<0.1	<0.1
DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO	mg/L	0-80	3	3	2
SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	mg/L	0-380	2.11	33.4	2.6
SODIO	mg/L	2,6-120,0	2.42	3.51	3.43
POTASIO	mg/L	1,7-160,0	0.93	1.67	1.16
CALCIO	mg/L	2,6-94,6	51.2	53.2	54.1
MAGNESIO	mg/L	1,0-16,9	2.02	2.13	2.55

UNT, unidades nefelométricas

En esta tabla se pueden observar los parámetros fisicoquímicos obtenidos de las muestras de agua de los canales de regadío de donde se obtuvieron los moluscos Lymnaeidos en la provincia de Cajabamba, estación de otoño. Estos datos son comparados con los rangos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica* (Mas-Coma et al, 1999b).

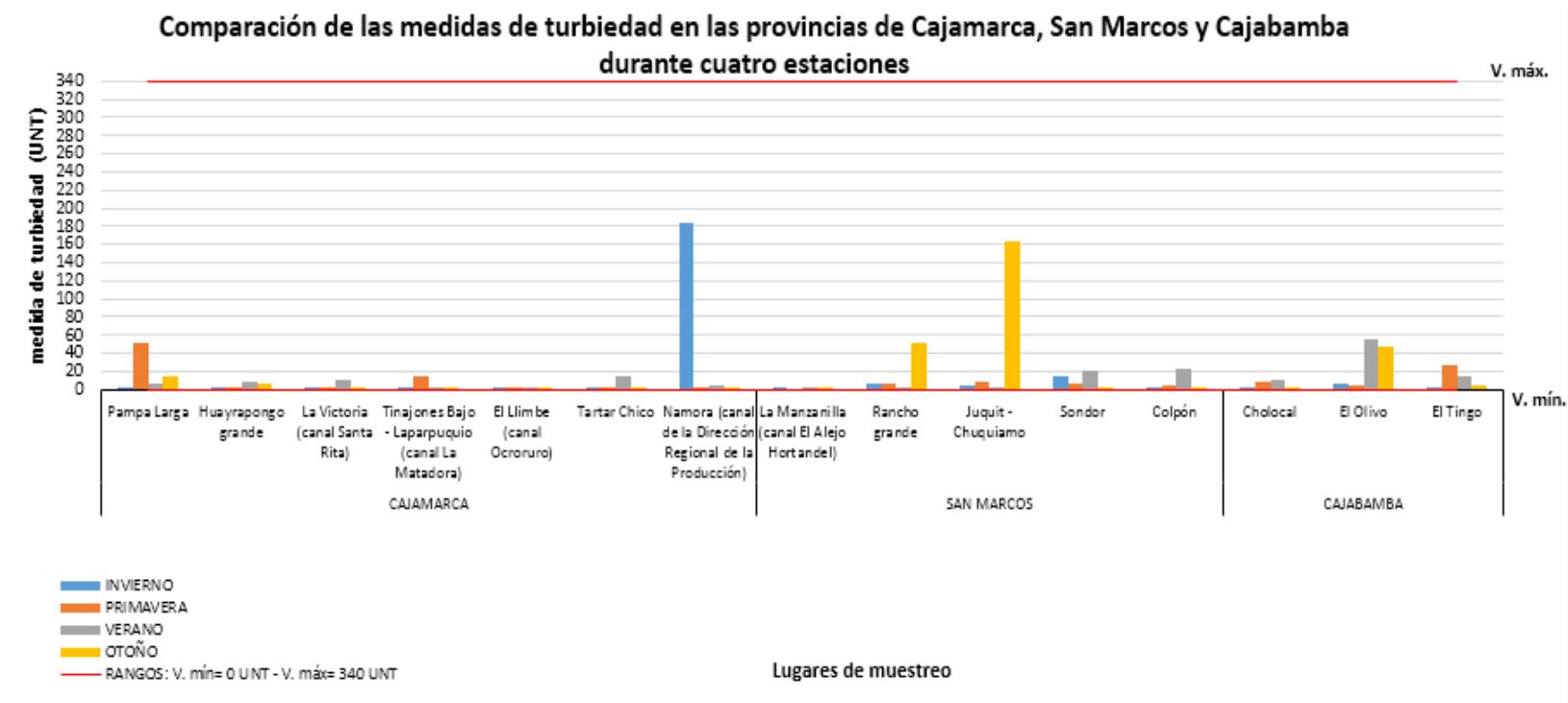


Figura 3. Comparación de la medida de turbidez de las muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno y primavera-2015 y verano y otoño-2016). Observamos en esta imagen que las medidas de turbiedad se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, los cuales van de 0 a 340 UNT (Unidades Nefelométricas), observando que no existe diferencia significativa de las turbideces del agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,6946$) (Ver anexo N° 01).

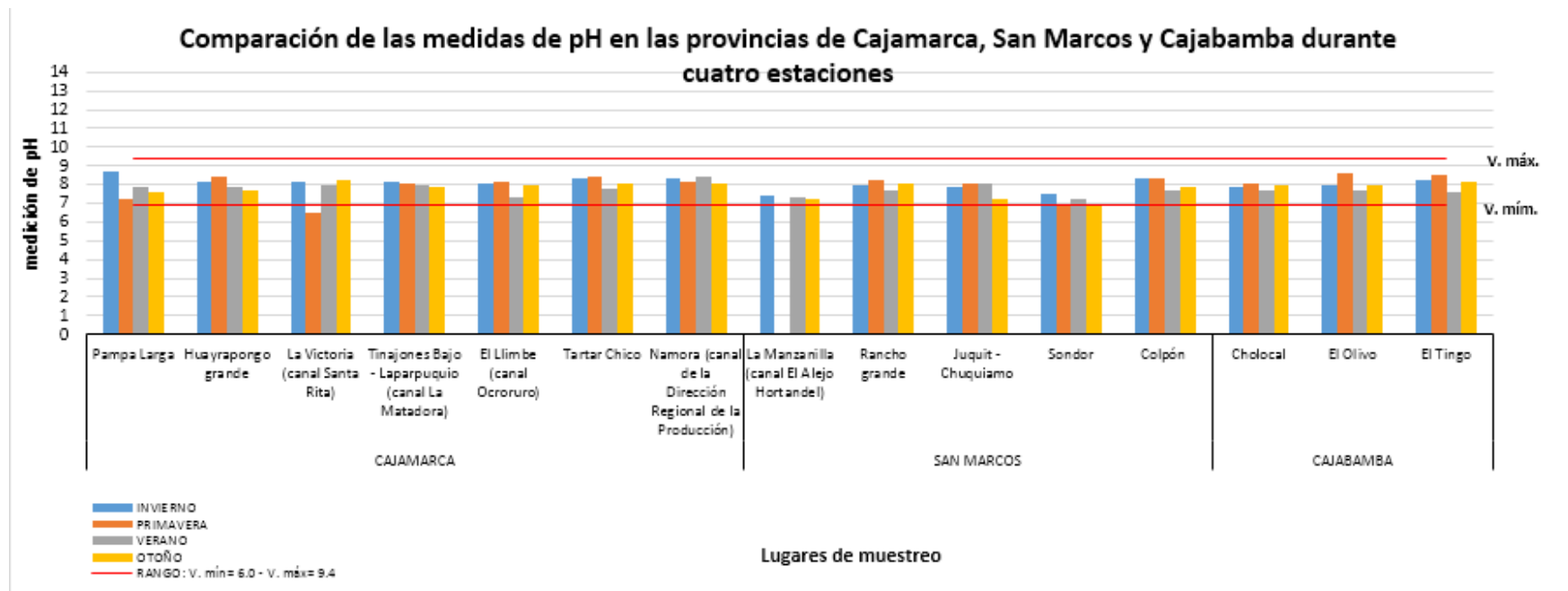


Figura 4. Comparación de la medida de pH de muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que las medidas de pH se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 6 a 9.4, observando que existe diferencia significativa de los pH del agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,0098$) (Ver anexo N° 01).

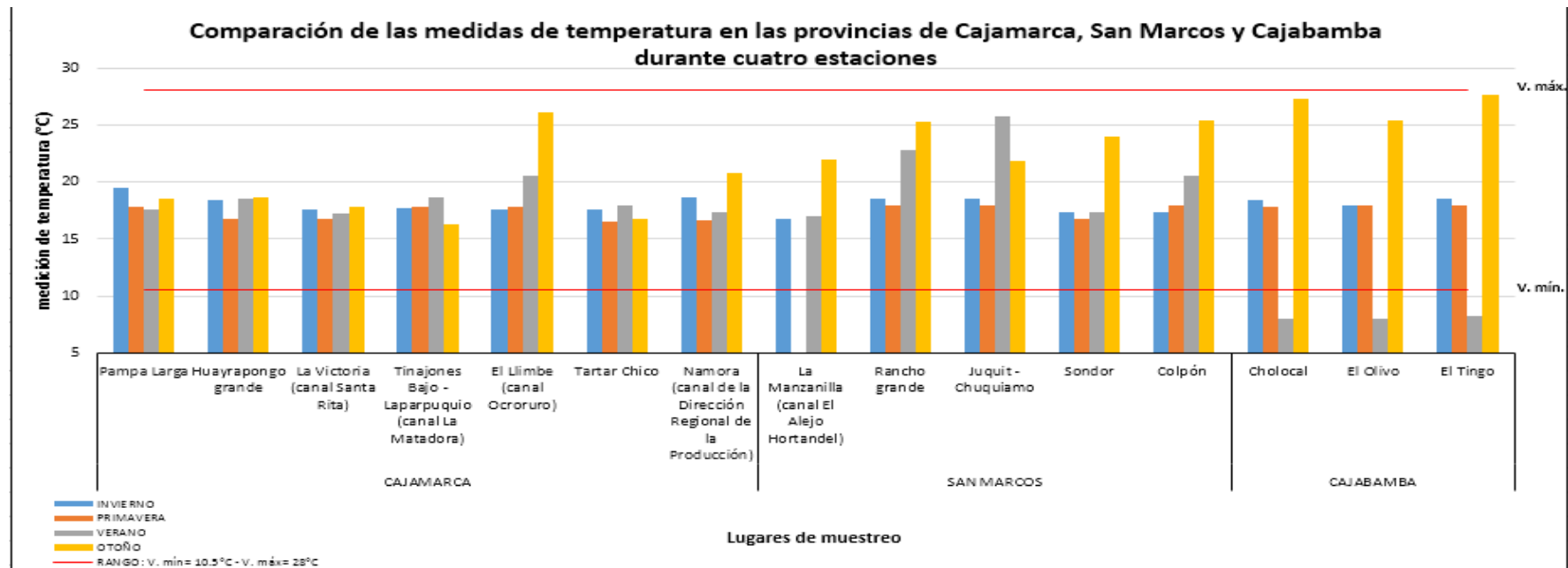


Figura 5. Comparación de la medida de la temperatura de muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que las medidas de temperatura se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 10.5 a 28 °C, observando que no existe diferencia significativa de las temperaturas del agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,9574$) (Ver anexo N° 01).

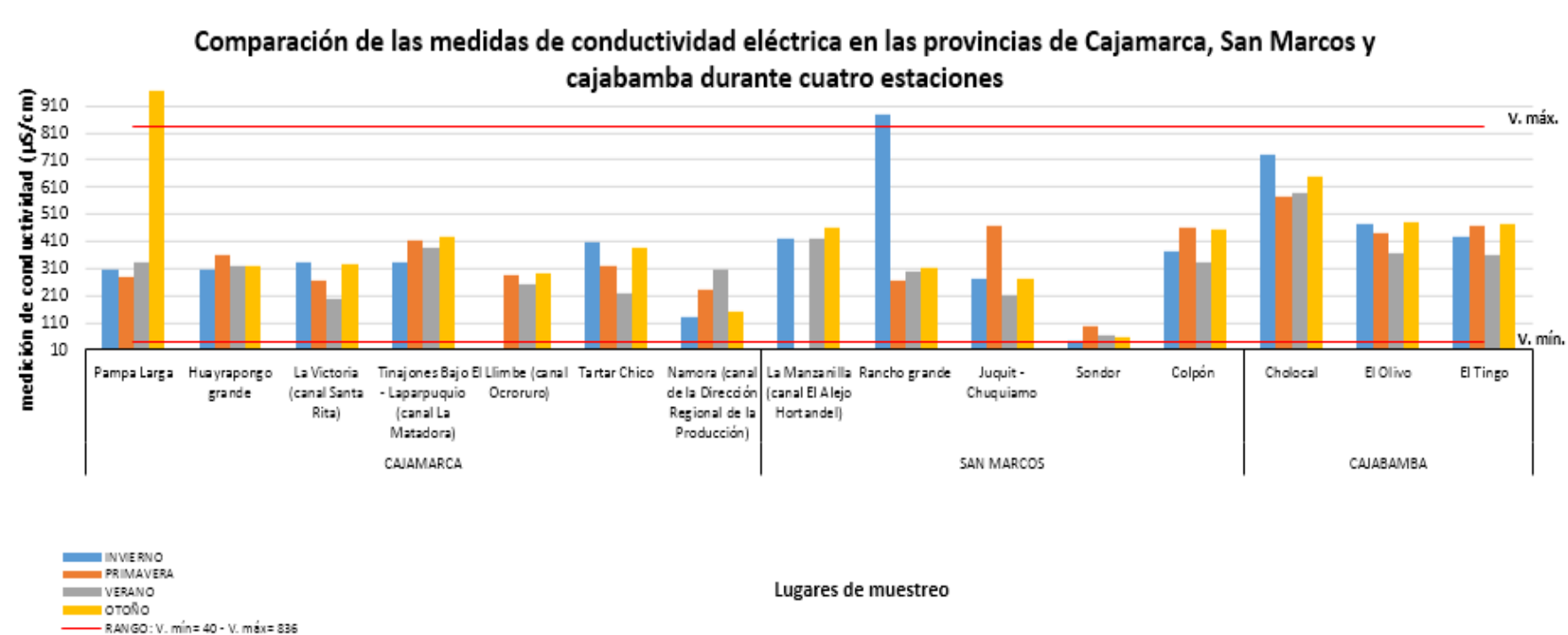


Figura 6. Comparación de la medida de la conductividad de muestras de agua recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que las medidas de conductividad se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 40 a 836, observando que existe diferencia significativa de las conductividades del agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,0002$) (Ver anexo N° 01).

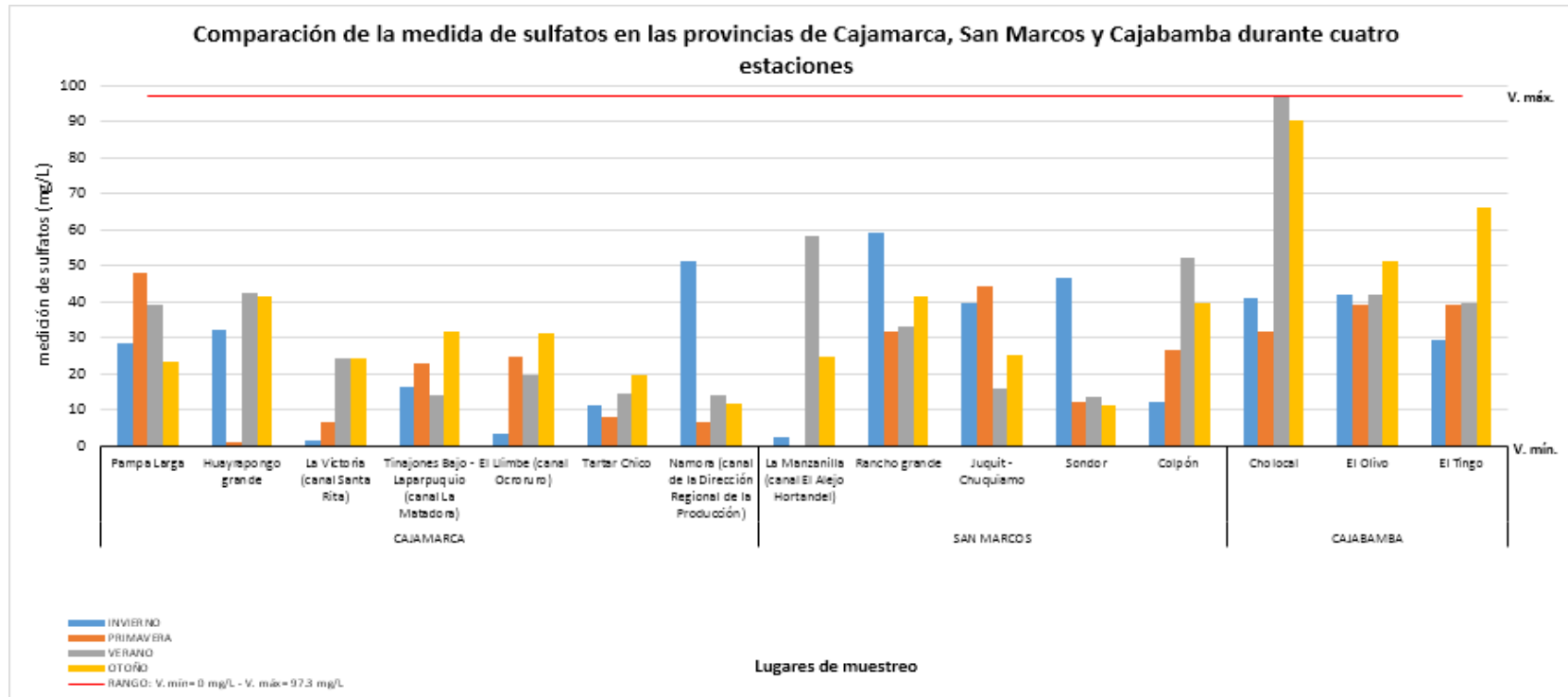


Figura 7. Comparación de la cantidad de sulfatos en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de sulfatos presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 0 a 97.3 mg/L, observando diferencia significativa de la presencia de sulfatos en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,0066$) (Ver anexo N° 01).

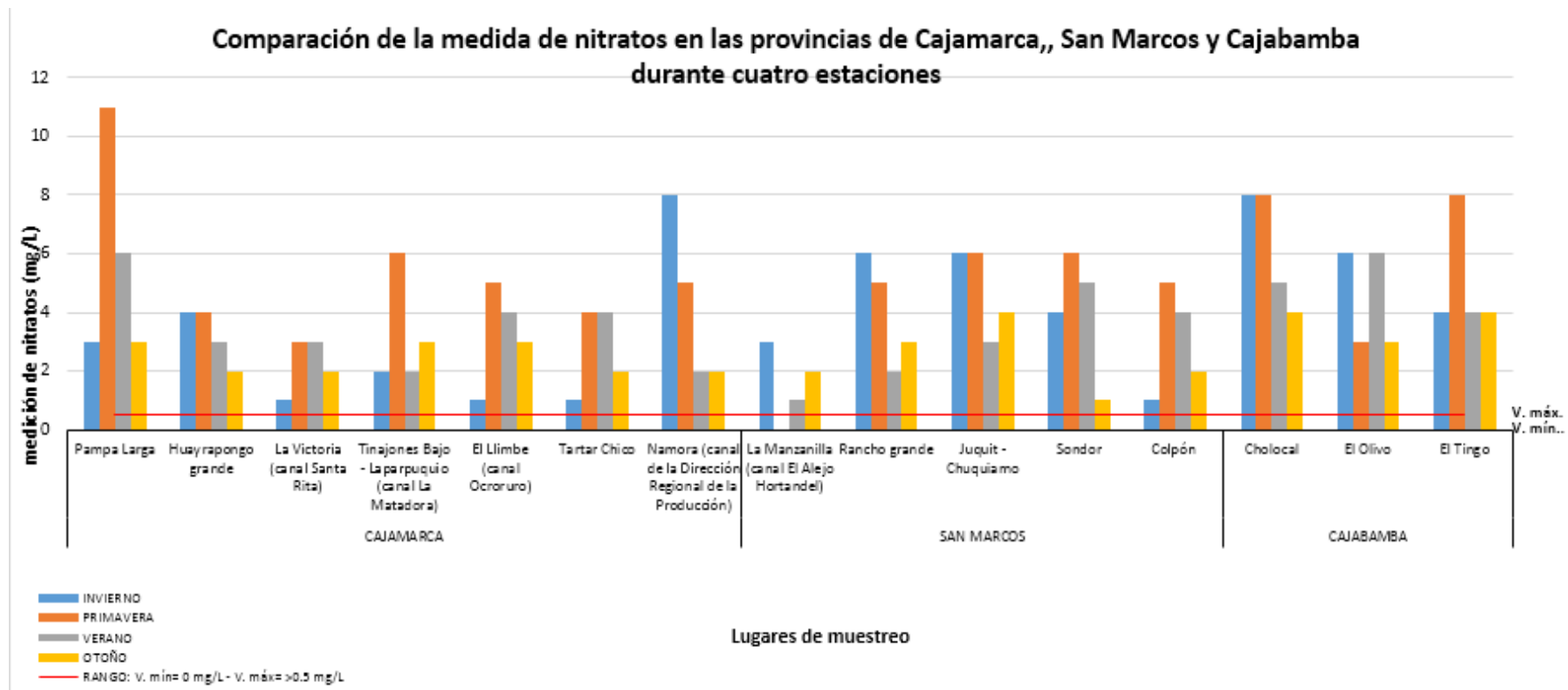


Figura 8. Comparación de la cantidad de nitratos en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de nitratos presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 0.00 a > 0.50 mg/L, observando que no existe diferencia significativa de la presencia de nitratos en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,1733$) (Ver anexo N° 01).

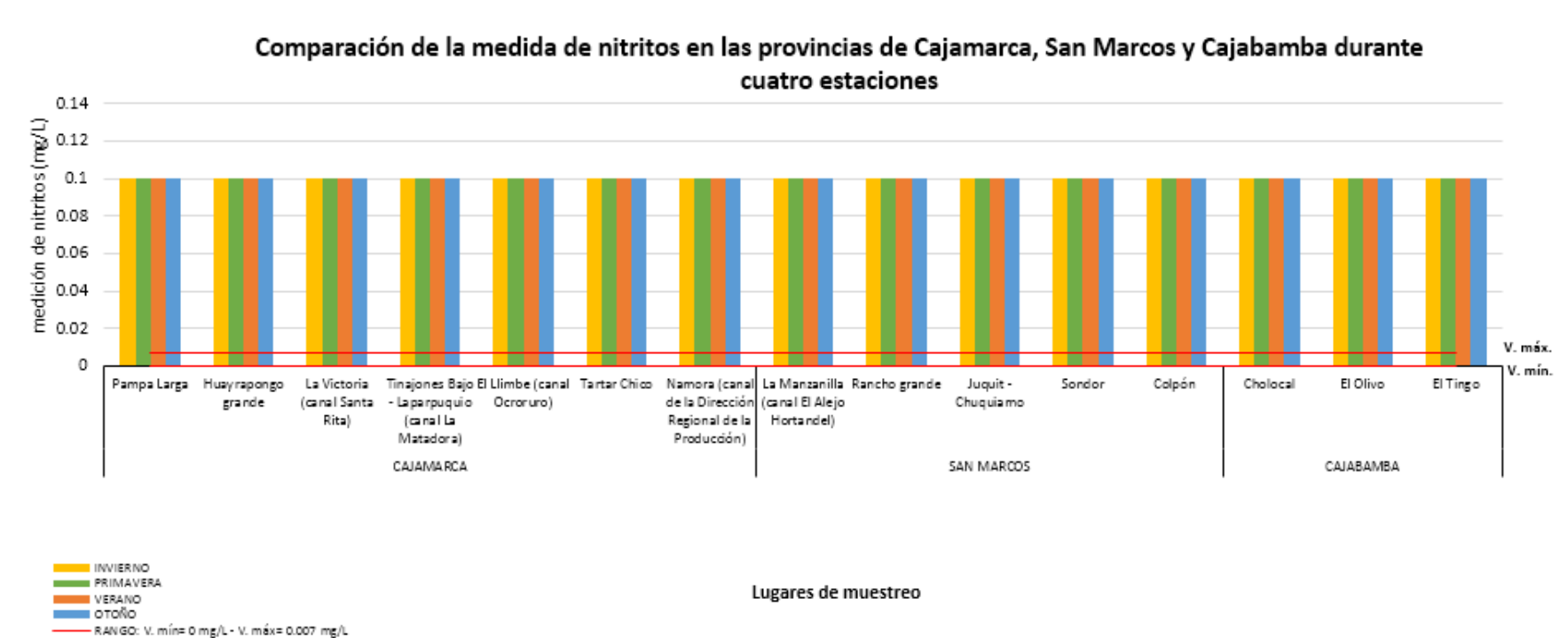


Figura 9. Comparación de la cantidad de nitritos en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de nitritos presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 0.000 - 0.007 mg/L y según Villegas, 1984 va de 0 – 0.25 p. p. m., observando que no aplica el **p** para la presencia de nitritos en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = \text{-----}$) (Ver anexo N° 01).

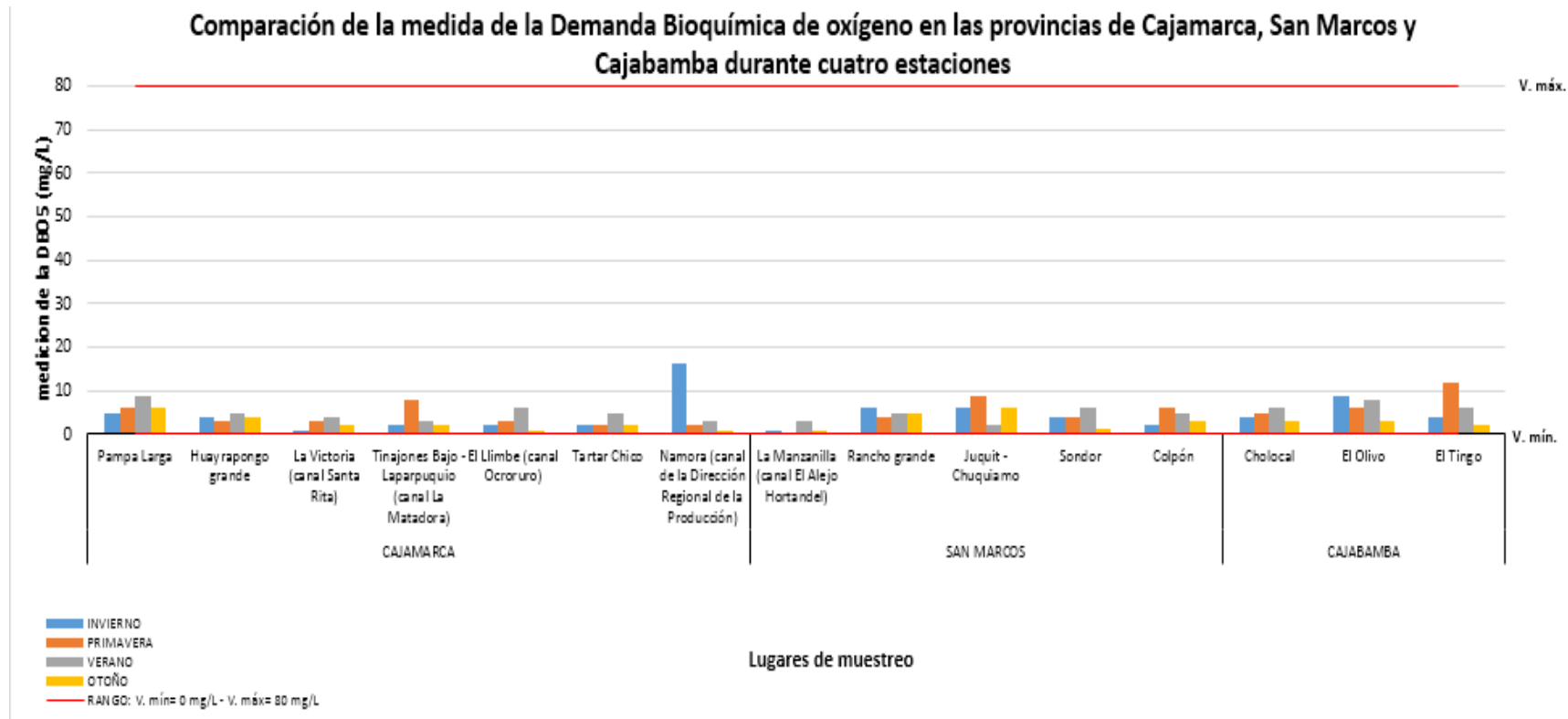


Figura 10. Comparación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO5) en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 0 - 80 mg/L, observando que no existe diferencia significativa del DBO5 en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,4002$) (Ver anexo N° 01).



Figura 11. Comparación de las medidas de los sólidos suspendidos totales en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de sólidos totales suspendidos presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 0 - 380 mg/L, observando que no existe diferencia significativa de los sólidos suspendidos totales en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,7318$) (Ver anexo N° 01).

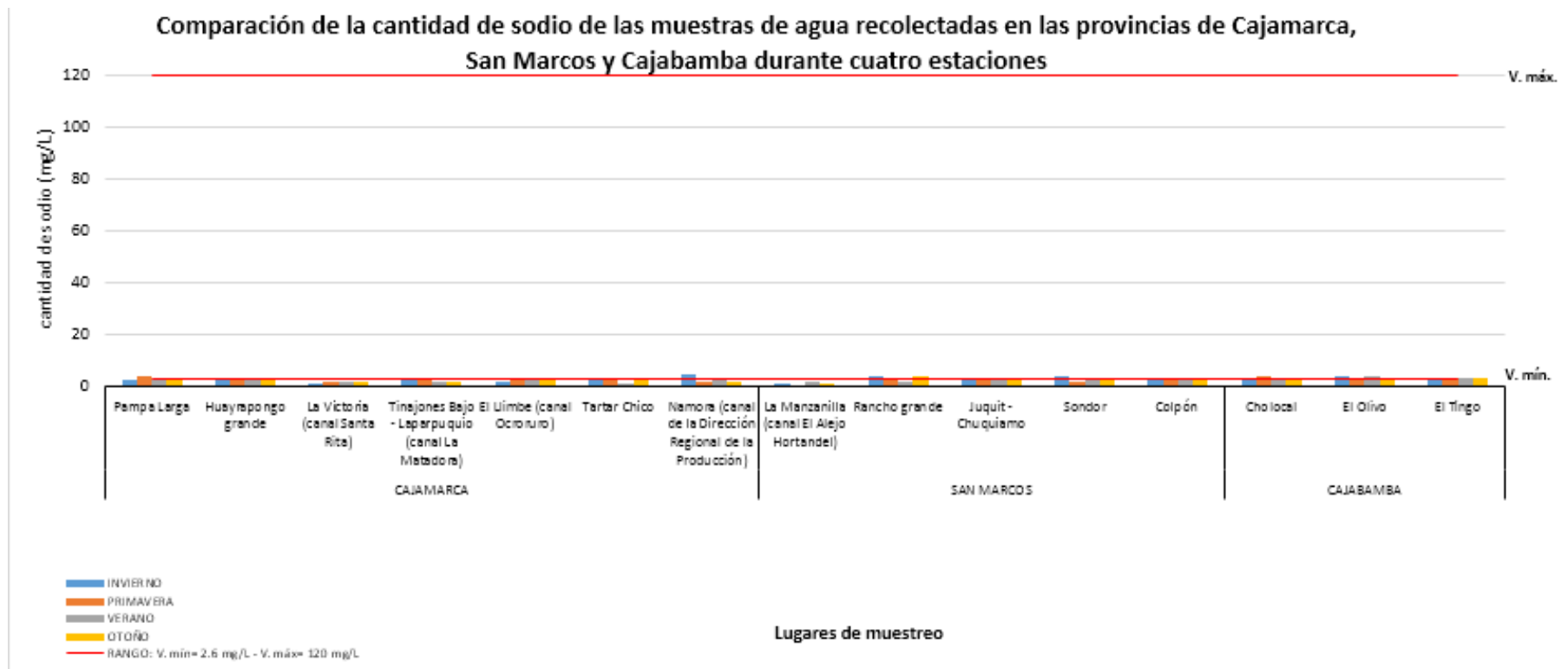


Figura 12. Comparación de la cantidad de sodio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de sodio presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 2.6 - 120 mg/L, observando que existe diferencia significativa de la presencia de sodio en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0, 0079$) (Ver anexo N° 01).

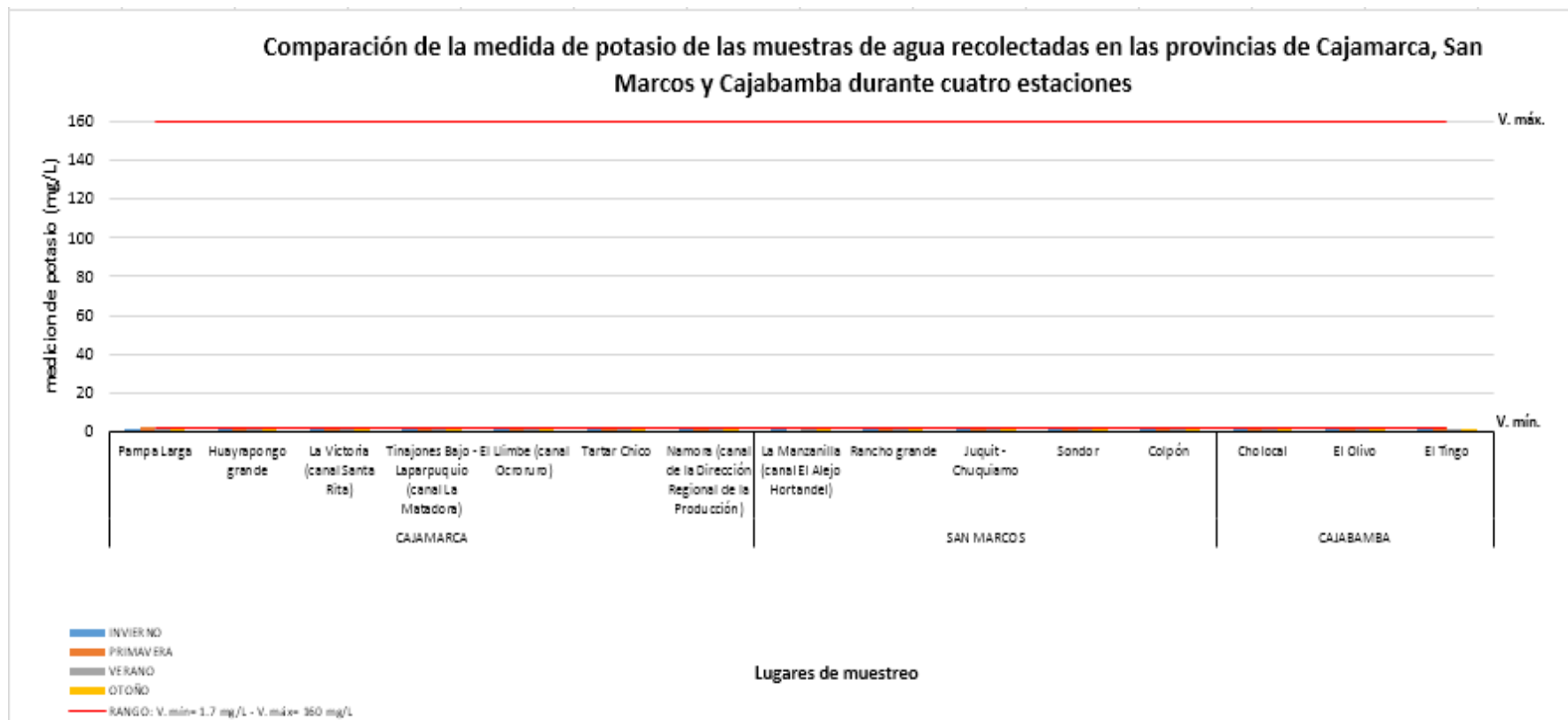


Figura 13. Comparación de la cantidad de potasio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de potasio presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 1.7 - 160 mg/L., observando que no existe diferencia significativa de la presencia de potasio en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,3094$) (Ver anexo N° 01).

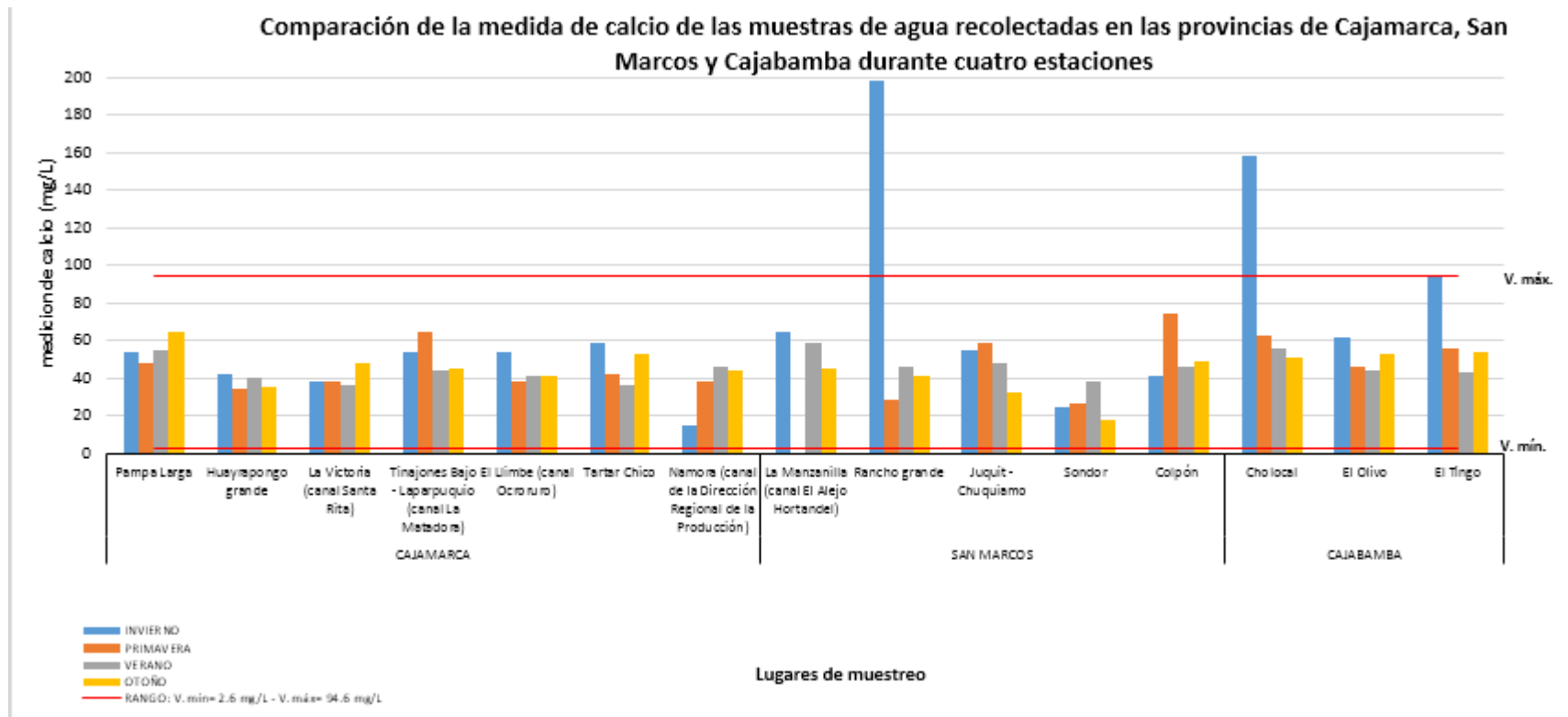


Figura 14. Comparación de la cantidad de calcio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de calcio presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 2.6 – 94.6 mg/L y según Villegas, 1984 va de 36,14 – 106.30 p. p. m., observando que no existe diferencia significativa de la presencia de calcio en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,3062$) (Ver anexo N° 01).

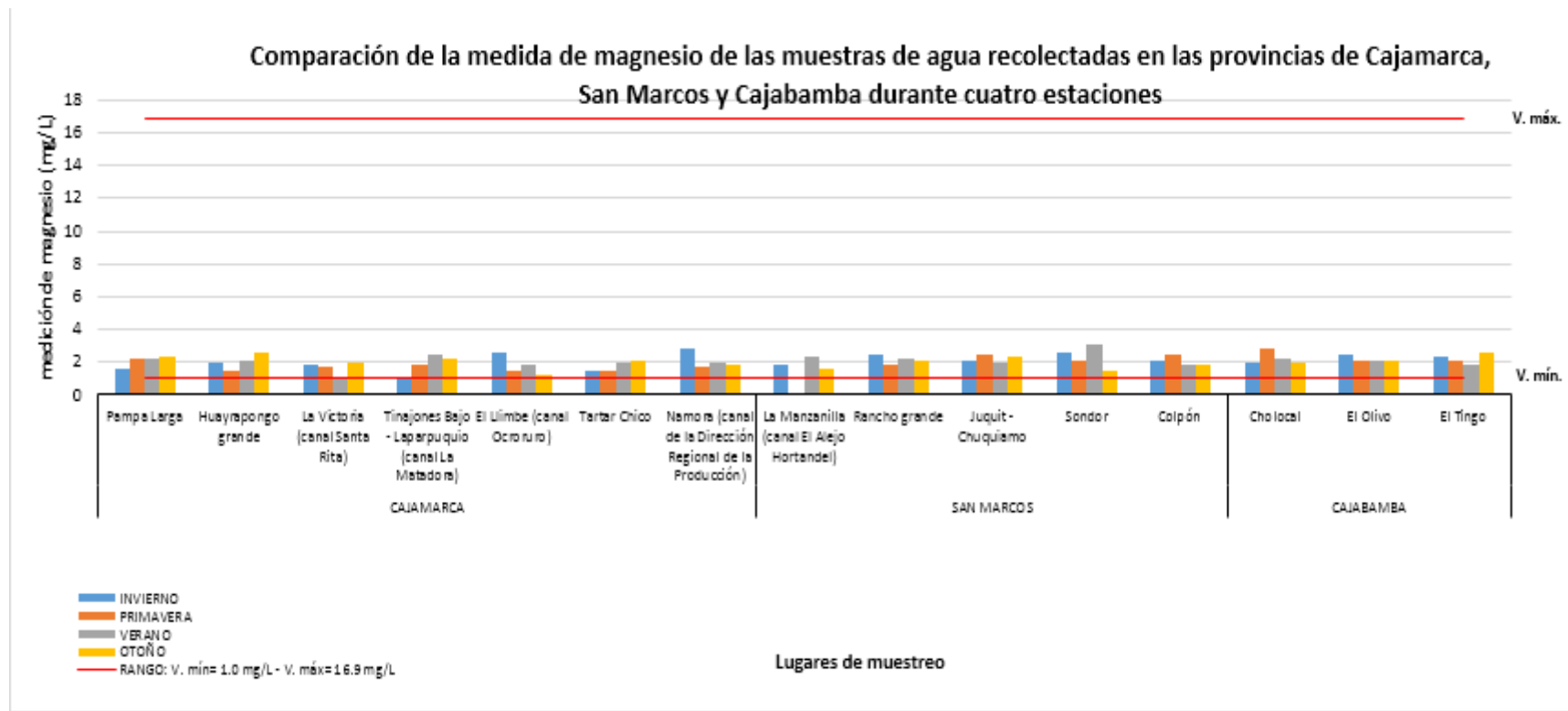


Figura 15. Comparación de la cantidad de magnesio en las muestras de aguas recolectadas de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Observamos en esta imagen que la cantidad de magnesio presente en las aguas recolectadas se encuentran en los rangos establecidos por Mas-Coma et al, 1999b, para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*, rango que va de 1.0 – 16.9 mg/L, observando que no existe diferencia significativa de la presencia de magnesio en el agua recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0, 6030$) (Ver anexo N° 01).

Tabla 17. Número de moluscos Lymnaeidos recolectados en canales de regadío de caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba – Perú, en 4 estaciones.

Provincias	Código	Caseríos	Nº de moluscos recolectados x m cuadrado-invierno	Nº de moluscos recolectados x m cuadrado-primavera	Nº de moluscos recolectados x m cuadrado-verano	Nº de moluscos recolectados x m cuadrado-otoño
Cajamarca	001	Pampa Larga	28	15	141	556
	002	Huayrapongo grande	0	17	7	1
	003	La Victoria (canal Santa Rita)	1	0	2	3
	004	Tinajones Bajo - Laparpuquio (canal La Matadora)	33	3	1	14
	005	El Llimbe (canal Ocoruro)	226	54	211	13
	006	Tartar Chico	13	19	8	2
	007	Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción)	0	0	96	102
San Marcos	008	La Manzanilla (canal El Alejo Hortandel)	0	0	31	0
	009	Rancho grande	76	145	7	21
	010	Chuquiamo	12	36	23	18
	011	Sondor	7	51	32	74
	012	Colpón	42	116	91	140
Cajabamba	013	Cholocal	85	277	109	81
	014	El Olivo	50	80	68	166
	015	El Tingo	83	57	43	26
TOTAL DE MOLUSCOS RECOLECTADOS			656	870	871	1217

La tabla nos muestra la cantidad de moluscos recolectados en un metro cuadrado en los canales de regadío de caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, durante las cuatro estaciones en estudio, realizando la búsqueda en varios puntos y centrándose en aquellos en donde se encontraron los Lymnaeidos. En algunos lugares de recolección no se encontró la presencia de Lymnaeidos, como en el caserío de Huayrapongo grande, La Victoria, Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción) y la Manzanilla (canal El Alejo Hortandel). El total de caracoles recolectados por estación fue de 656 en invierno, 870 en primavera, 871 en verano y 1217 en otoño.

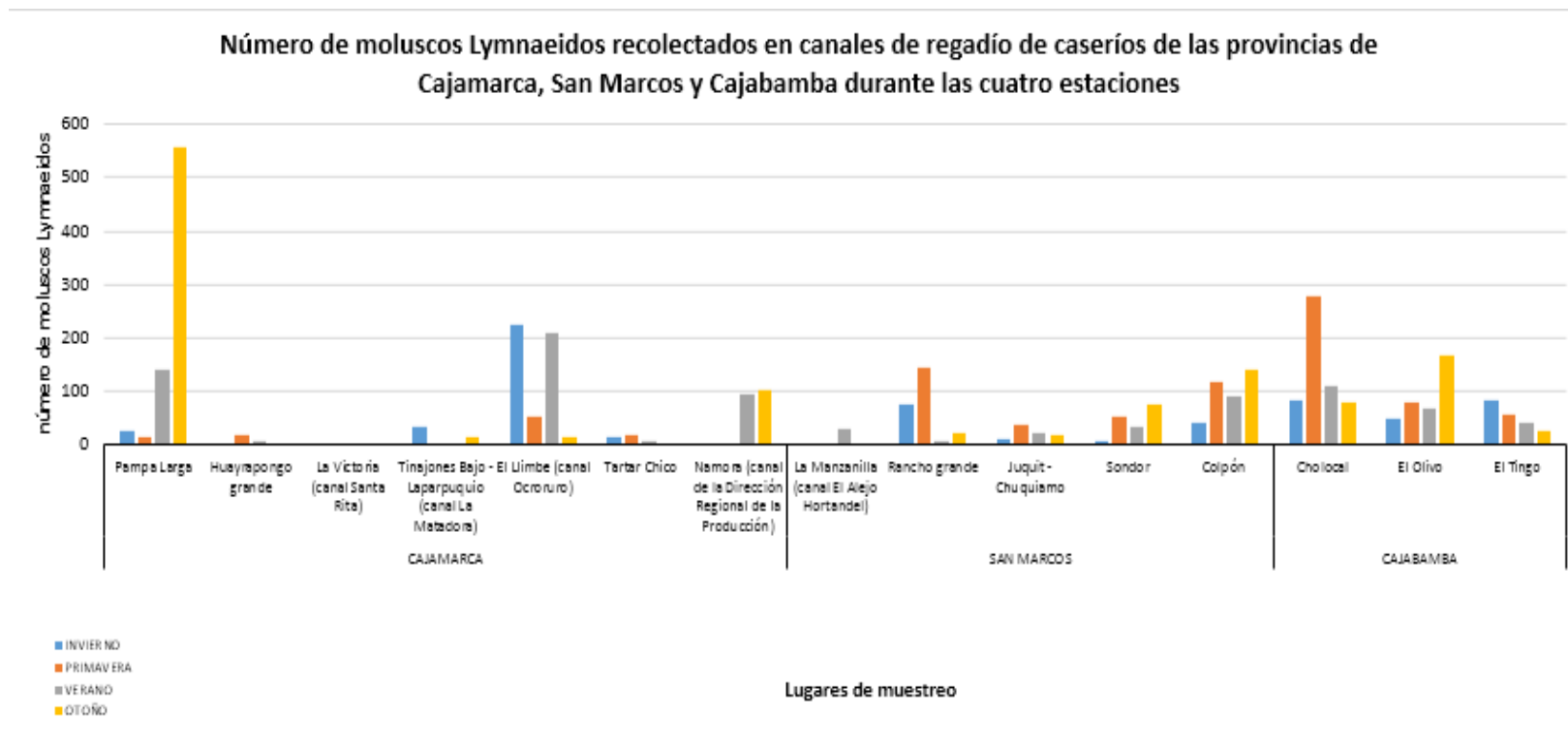


Figura 16. Cantidad total de moluscos Lymnaeidos recolectados en canales de regadío de caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Esta imagen nos muestra la cantidad total de caracoles Lymnaeidos recolectados por m² en los canales de regadío de caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, observamos que en algunos lugares de recolección se encontró escasa o nula presencia de Lymnaeidos, como en el caserío de Huayrapongo grande, La Victoria, Namora (canal de la Dirección Regional de la Producción) y la Manzanilla (canal El Alejo Hortandel) en algunas estaciones. Se observa que no hay una diferencia significativa en el número de moluscos recolectada entre las estaciones en estudio ($p = 0,05$) (Ver anexo N° 01).

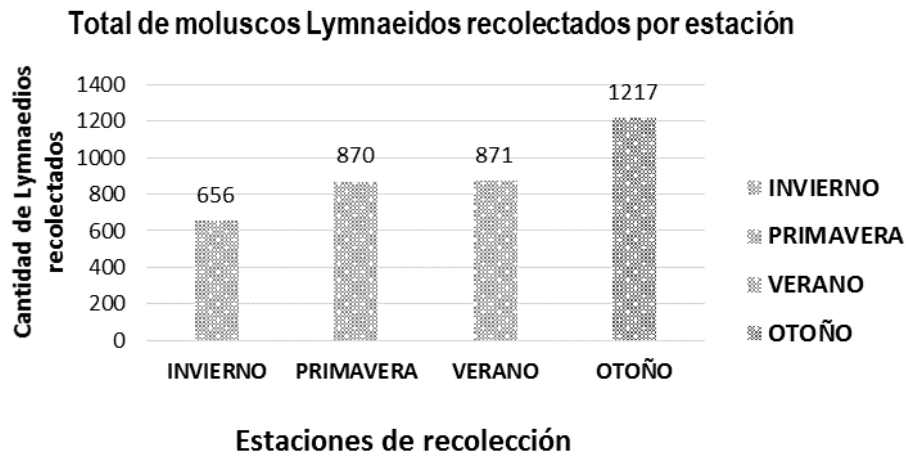


Figura 17. Total de moluscos Lymnaeidos recolectados en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante cuatro estaciones (invierno – primavera, 2015 y verano – otoño, 2016). Esta imagen nos muestra la cantidad total de caracoles Lymnaeidos recolectados en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante las cuatro estaciones, observando que en la estación de otoño obtuvimos mayor cantidad de moluscos por un metro cuadrado.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) CONVENCIONAL DE LOS LYMNAEIDOS RECOLECTADOS DE CANALES DE REGADÍO DE LAS PROVINCIAS DE CAJAMARCA, SAN MARCOS Y CAJABAMBA DURANTE LAS ESTACIONES DE INVIERNO, PRIMAVERA, VERANO Y OTOÑO.

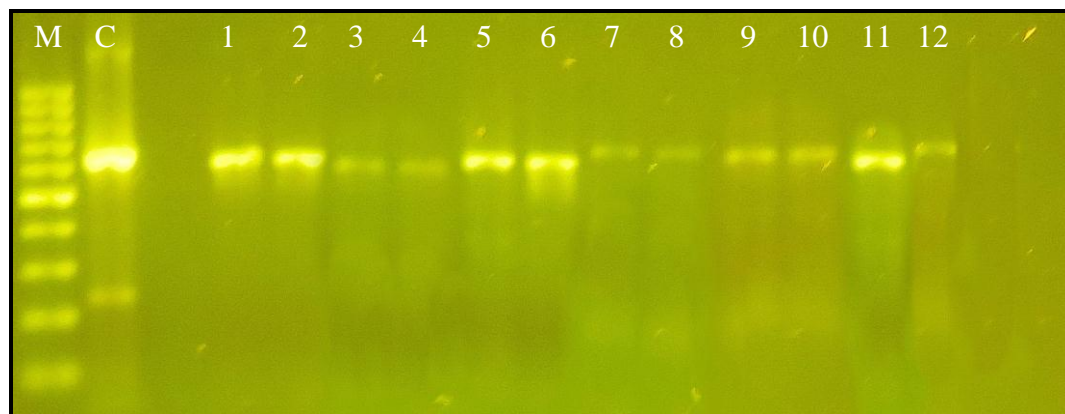


Figura 18. Bandas con amplicones de ITS2 - Estación invierno. Gel de agarosa al 2% teñido con SYBRsafe (invitrogen) en el que se muestran los productos de PCR de los amplicones correspondientes al ITS2 de 12 muestras de caracoles Lymnaeidos colectados en esta estación, de 5 caseríos de la provincia de Cajamarca (Pampa Larga, La Victoria, Tinajones, El Llimbe y Tartar chico) (1-5), 4 caseríos de la provincia San Marcos (Rancho grande, Chuquiama, Sondor y Colpón) (6-9) y 3 caseríos de la provincia de Cajabamba (Cholocal, El Olivo y El Tingo) (10-12).

Leyenda:

M: Marcador C: Control

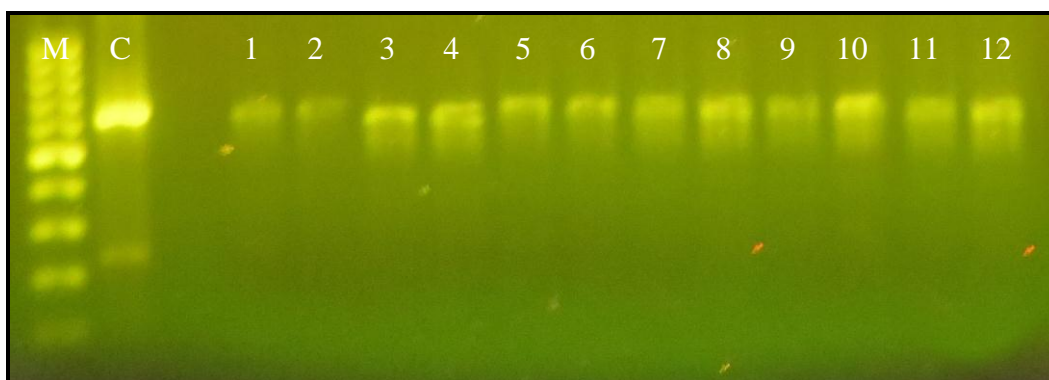


Figura 19. Bandas con amplicones de PCR convencional al ITS2 - Estación primavera. Gel de agarosa al 2% teñido con SYBRsafe (invitrogen) en el que se muestran los productos de los amplicones correspondientes al ITS2 de 12 muestras de caracoles Lymnaeidos colectados en esta estación, de 5 caseríos de la provincia de Cajamarca (Pampa Larga, Huayrapongo grande, Tinajones Bajo, El Llimbe y Tartar chico) (1-5), 4 caseríos de la provincia San Marcos (Rancho grande, Chuquiama,

Sondor y Colpón) (6-9) y 3 caseríos de la provincia de Cajabamba (Cholocal, El Olivo y El Tingo) (10-12).

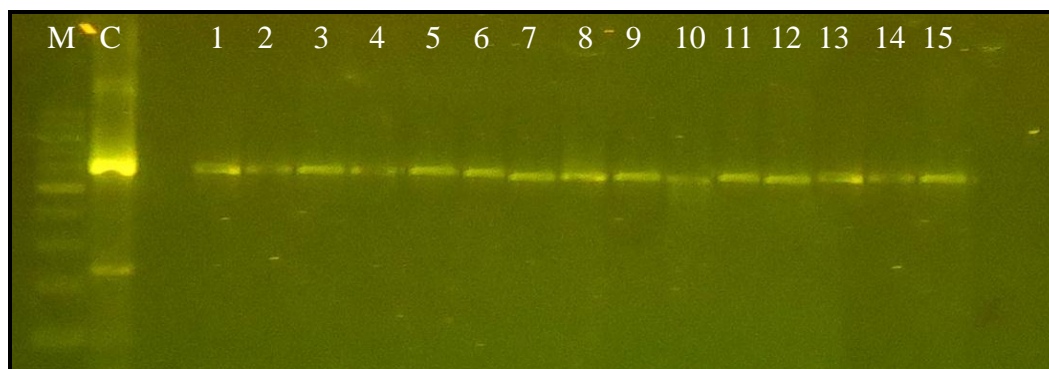


Figura 20. Bandas con amplicones de PCR convencional al ITS2 - Estación verano. Gel de agarosa al 2% teñido con SYBRsafe (invitrogen) en el que se muestran los productos de los amplicones correspondientes al ITS2 de 15 muestras de caracoles Lymnaeidos colectados en esta estación, de 7 caseríos de la provincia de Cajamarca (Pampa Larga, Huayrapongo grande, La Victoria, Tinajones, El Llimbe, Tartar chico y Namora) (1-7), 5 caseríos de la provincia San Marcos (La Manzanilla, Rancho grande, Chuquiamo, Sondor y Colpón) (8-12) y 3 caseríos de la provincia de Cajabamba (Cholocal, El Olivo y El Tingo) (13-15).

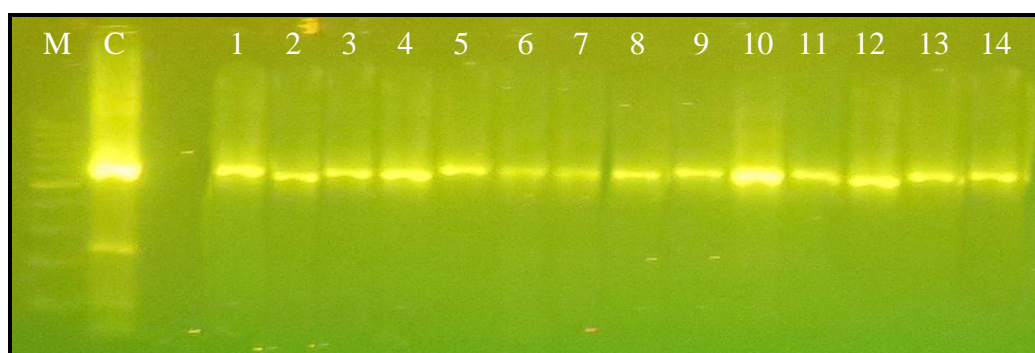


Figura 21. Bandas con amplicones de PCR convencional al ITS2 - Estación otoño. Gel de agarosa al 2% teñido con SYBRsafe (invitrogen) en el que se muestran los productos de los amplicones correspondientes al ITS2 de 14 muestras de caracoles Lymnaeidos colectados en esta estación, de 7 caseríos de la provincia de Cajamarca (Pampa Larga, Huayrapongo grande, La Victoria, Tinajones Bajo, El Llimbe, Tartar chico y Namora) (1-7), 4 caseríos de la provincia San Marcos (Rancho grande, Chuquiamo, Sondor y Colpón) (8-11) y 3 caseríos de la provincia de Cajabamba (Cholocal, El Olivo y El Tingo) (12-14).

Tabla 18. Especies de caracoles Lymnaeidos identificados molecularmente con el marcador ITS-2, recolectados de 7 caseríos de la provincias de Cajamarca, 5 caseríos de la provincia de San Marcos y 3 caseríos de la provincia de Cajabamba, durante las estaciones invierno - primavera (2015) y verano - otoño (2016).

Estaciones	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
Caserío de la provincia de Cajamarca	Especie (s)	Especie (s)	Especie (s)	Especie (s)
Pampa larga	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>
Huayrapongo Grande	-	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>
La Victoria	<i>Galba truncatula</i>	-	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>
Tinajones Bajo	<i>Pseudosuccinea columella</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>
	<i>Galba truncatula</i>			
El Llimbe	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>
Tartar Chico	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>
Namora	-	-	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>
Caseríos de la provincia San Marcos				
La Manzanilla	-	-	<i>Galba truncatula</i>	-
Rancho Grande	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba truncatula</i>
Chuquiama	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>
Sondor	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba truncatula</i>
Colpón	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba truncatula</i>
Caseríos de la provincia Cajabamba				
Cholocal	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>
El Olivo	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>
El Tingo	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Galba schirazensis</i>

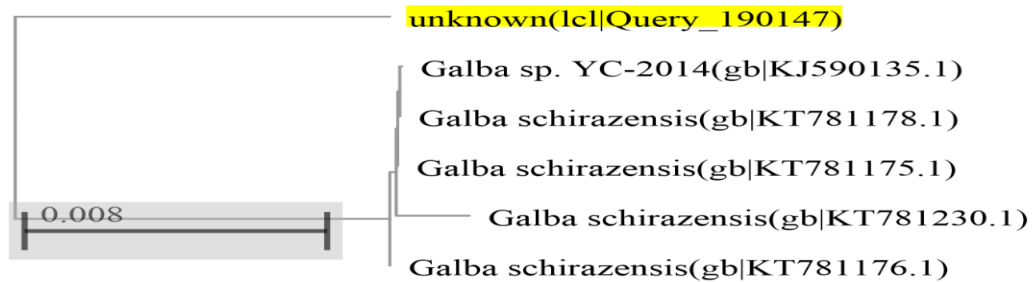
Observamos el resultado del secuenciamiento de los Lymnaeidos identificando 3 especies, *Galba schirazensis* y *Galba truncatula* distribuidas por las tres provincias y en las cuatro estaciones en estudio, y a *Pseudosuccinea columella* en la estación de invierno en el caserío tinajones Bajo, distrito de Cajamarca.

Leyenda:

(-): No se identificaron molecularmente los caracoles por no haberse encontrado muestras en los canales de regadío y en las estaciones en estudio.

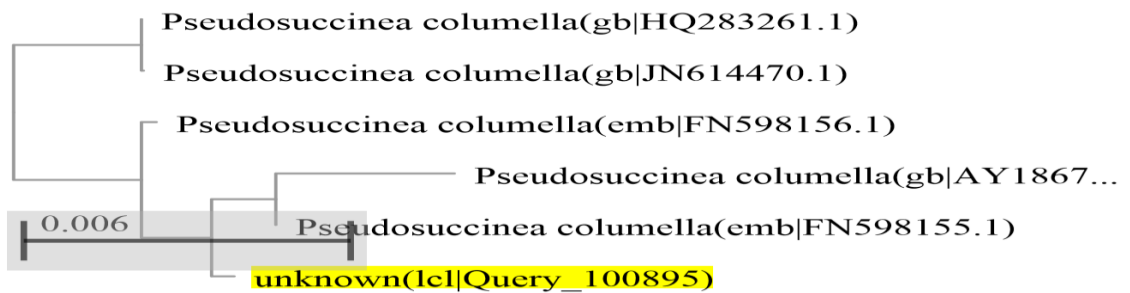
Figura 22. Árboles filogenéticos de las especies recolectadas en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba durante las estaciones invierno – primavera (2015) y verano – otoño (2016). A continuación observamos los árboles filogenéticos y los % de homología reportados en el Genbank.

KT781178.1 *Galba schirazensis*



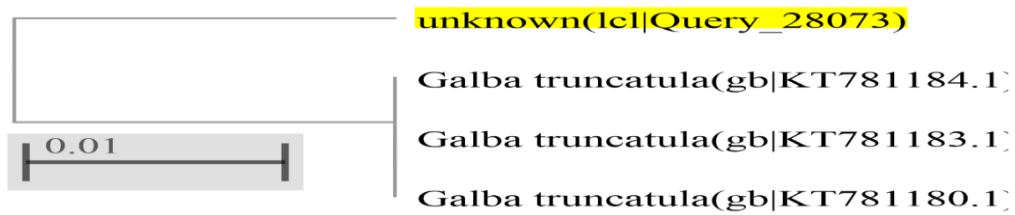
A. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 99% homóloga con *Galba schirazensis* (KT781178.1).

AY186751.1 *Pseudosuccinea columella*



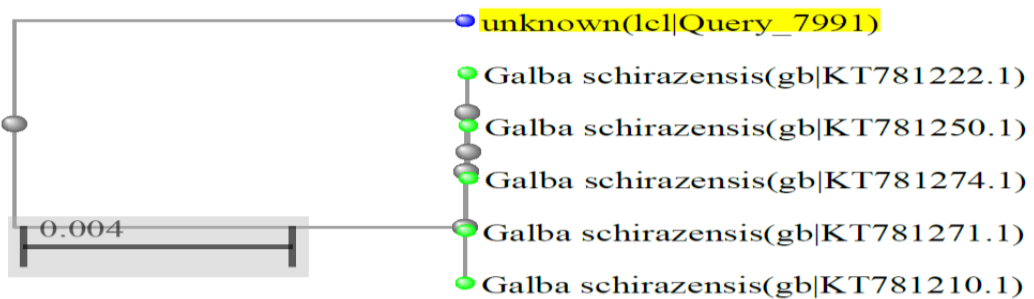
B. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 98% homóloga con *Pseudosuccinea columella* (AY186751.1).

KT781184.1 *Galba truncatula*



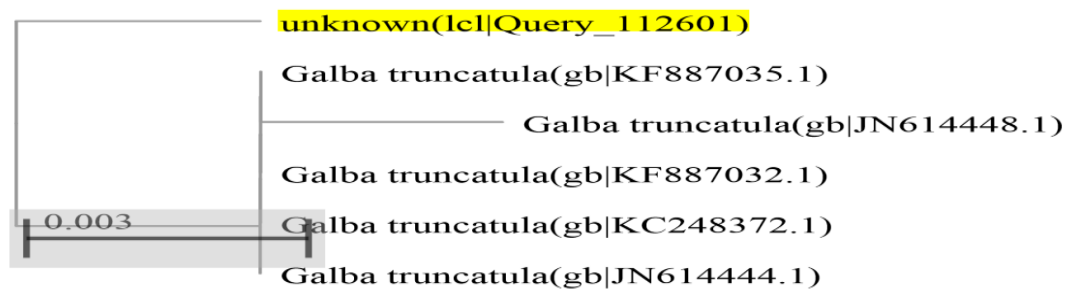
C. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 96% homóloga con *Galba truncatula* (KT781178.1).

KT781222.1 *Galba schirazensis*



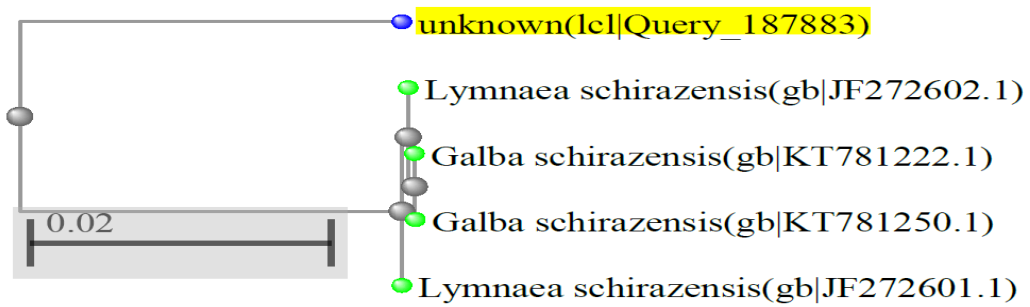
D. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 98% homóloga con *Galba schirazensis* (KT781222.1).

KF887035.1 *Galba truncatula*



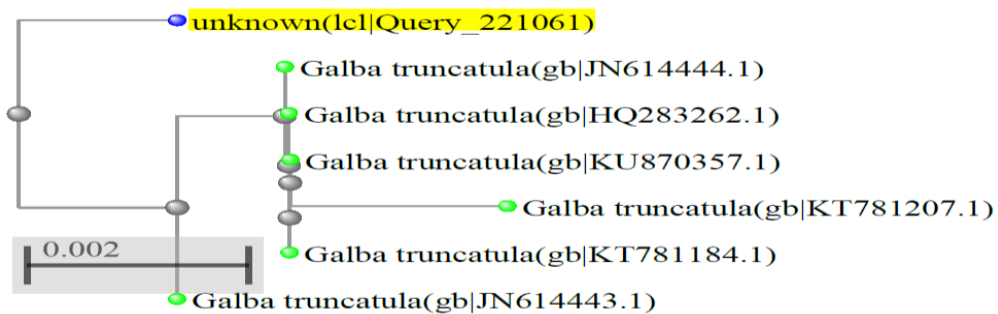
E. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 99% homóloga con *Galba truncatula* (KF887035.1).

JF272602.1 *Galba schirazensis*



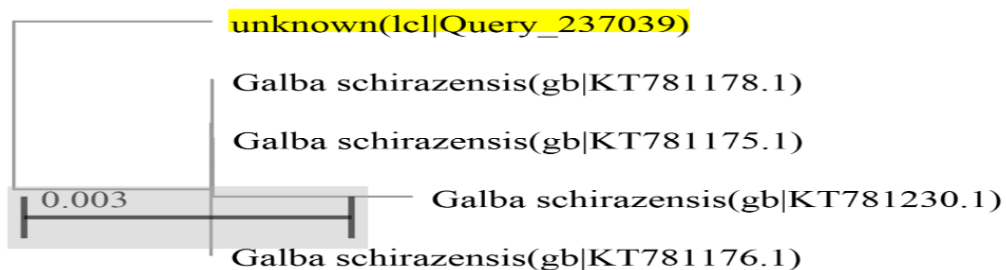
F. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 94% homóloga con *Galba schirazensis* (JF272602.1).

JN614444.1 *Galba truncatula*



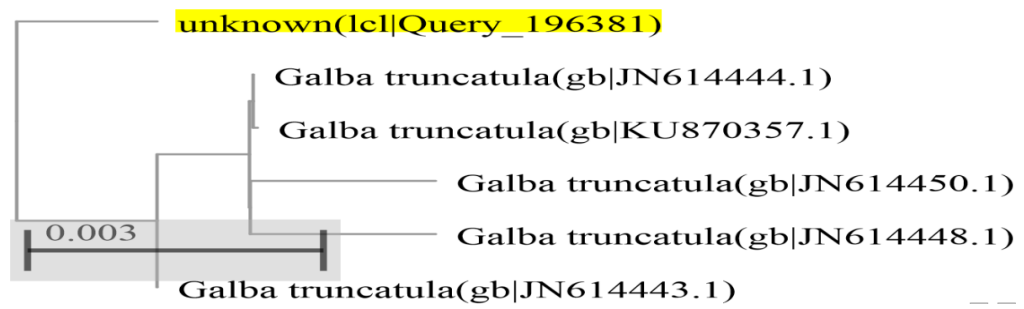
G. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 99% homóloga con *Galba truncatula* (JN614444.1).

KT781176.1 *Galba schirazensis*



H. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 97% homóloga con *Galba schirazensis* (KT781176.1).

JN614444.1 *Galba truncatula*



I. Los amplicones fueron secuenciados y comparados con los reportados en el Genbank. La secuencia fue 90% homóloga con *Galba truncatula* (JN614444.1).

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímicos del agua recolectada de los canales de regadío y análisis del entorno ecológico de los caracoles Lymnaeidos, durante las estaciones de invierno y primavera (setiembre y noviembre - 2015) y verano y otoño (marzo y mayo - 2016), en caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba.

La fascioliasis es producida por *F. hepatica*, parásito de distribución mundial, debido a su alta capacidad de colonización de su hospedero intermediario (caracol del género *Lymnaea*), el cual presenta capacidad de adaptarse en la más amplia distribución latitudinal, longitudinal, altitudinal y temperaturas (Mas-Coma et al, 1999b; Mas-Coma, 2004; Mas-Coma et al., 2005; Mas-Coma et al., 2008; Mantari et al., 2012).

La enfermedad es altamente dependiente del clima, características medioambientales como estaciones del año, cambios climáticos, construcción de canales de regadío, represas, aguas encharcadas, cambios antropogénicos (Ollerenshaw, 1974; Mas-Coma et al., 2008, 2009b; Valero et al., 2012). Análisis realizados por Afshan et al. (2014) en diferentes estaciones, observaron que el clima, las modificaciones del medio ambiente y las estaciones influyen en la distribución geográfica de la fascioliasis, variando según la altitud. Las áreas endémicas humanas en las regiones Andinas de América del Sur están relacionadas con altas altitudes (Bargues et al., 2012).

La fascioliasis tiene una amplia capacidad de adaptación, desde zonas por debajo del nivel del mar hasta más de 4200 m, siendo una parasitosis con amplia distribución (Mas-Coma, 2005).

Estos estudios concuerdan con los resultados de las tablas 1, 5, 9 y 13, en las que se reporta el desarrollo de los moluscos Lymaneidos en latitudes desde S07°07'42.6" hasta S07°28'35.9", longitudes desde W078°01'34.8" hasta W078°27'41.8", altitudes desde los 2007 hasta 3473 msnm. Mas-Coma et al. (2009a) determinaron que algunos moluscos como *G. truncatula*, se desarrollan favorablemente a principios de primavera y finales de otoño, mientras que las temperaturas cálidas del final de la primavera, verano y comienzo del otoño parecen ser apropiadas para *Radix natalensis* Cailliaudi. Prepelitchi (2009) observó la mayor prevalencia en otoño e invierno de los caracoles *Lymnaea columella* y del parásito *F. hepatica*, cuando las variables climáticas no limitaron el desarrollo. En el presente estudio se identificó molecularmente que *Galba truncatula* y *Galba schirazensis* se desarrollan en las cuatro estaciones del año (invierno - primavera 2015 y verano – otoño 2016) y *Pseudosuccinea columella* en la estación de invierno (2015) en la provincia de Cajamarca, con temperaturas que van desde 4.7 a 29.6 °C, que concuerdan con Torgerson y Claxton (1999) y Mas-Coma (1999b) quienes observaron que la temperatura para el desarrollo de los caracoles Lymnaeidos oscilan entre los 10 °C y 30 °C; humedad relativa desde 48 a 80 %, lo que concuerda que con suficiente humedad en el ambiente la transmisión se produce durante todo el año (Torgerson y Claxton, 1999). En Cajamarca las altas precipitaciones, el riego artificial y el encharcamiento de las aguas favorecen el desarrollo de los Lymnaeidos (Prepelitchi, 2009); y precipitaciones del ambiente de 0 a 16.9 mm, datos obtenidos de SENAMHI Cajamarca, determinan que con suficiente humedad en el suelo el ambiente es

favorable para los hospederos intermediarios de *F. hepatica*. Según estos resultados observamos que en caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba existen condiciones favorables para el desarrollo de los caracoles Lymnaeidos.

Iltis (1991), demostró que el alto contenido de sales disueltas en el lago Titicaca impedía el desarrollo de los caracoles Lymnaeidos. Villegas (1984) concuerda con parámetros fisicoquímicos propuestos por Mas-Coma et al. (1999), los cuales demostraron que los rangos óptimos para el desarrollo de los Lymnaeidos pueden ser turbiedad (0 - 340 UNT), pH (6,0 - 9,4), temperatura (10,5 - 28 °C), conductividad (40 - 836 uC/cm), sulfatos (0,0-97,3 mg/L), nitratos (0,00 - >0,50 mg/L), nitritos (0,000 - 0,007), DBO 5 (0 - 80 mg/L), según Vicente, 1968. Los Lymnaeidos pueden desarrollarse en bajas concentraciones de oxígeno, sólidos suspendidos totales (0 - 380 mg/L), sodio (2,6 - 120,0 mg/L), potasio (1,7 - 160,0 mg/L), calcio (2,6 - 94,6 mg/L) y magnesio (1,0 - 16,9 mg/L), todos estos rangos óptimos concuerdan con los resultados obtenidos en esta investigación tal como se demuestra en las tablas N°s 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 16 y figuras N°s 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15, en las que se observa que las muestras de agua de los canales de regadío en donde se desarrollaron los caracoles Lymnaeidos en caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba se encuentran en los rangos fisicoquímicos óptimos para el desarrollo de los moluscos intermediarios de *F. hepatica*.

Morfometría externa de los caracoles Lymnaeidos recolectados en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, en las estaciones de invierno - primavera (2015) y verano - otoño (2016).

Con ayuda de un microscopio estereoscópico y de una regla milimetrada se observó la morfometría externa de las conchas de caracoles Lymnaeidos maduros e inmaduros recolectados de caserío de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, en las estaciones de invierno y primavera (2015) y verano y otoño (2016).

Las medidas de los caracoles van desde 1 mm en el caso de los moluscos inmaduros, hasta 10 mm en el caso de los maduros; morfométricamente podemos observar que algunos caracoles son diferentes, como es el caso de *Pseudosuccinea columella*, recolectado en el caserío de Tinajones Bajo (Provincia Cajamarca) en la estación de invierno.

Los caracoles recolectados se encontraron habitando en las orillas de los canales, sobre las piedras o debajo de ellas, en los canales de curso lento y rápido, en fango, aguas de uso temporal y en las hojas de los berros presentes en algunos puntos de recolección, lo que concuerda con lo observado por Villegas (1984). En los anexos N° 10 y 11 observamos las diferencias morfométricas externas de muestras de caracoles Lymnaeidos colectados en caseríos de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba. Los caracoles de la familia *Lymnaea* pueden tener diferencias como en la forma de la conchilla, largo del pene, el prepucio, tamaño de la próstata, características que no necesariamente distinguen particularmente a especies de estos caracoles (Paraense, 1983; Caron et al., 2007).

Cantidad de caracoles Lymnaeidos recolectados en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, en las estaciones de invierno y primavera (2015) y verano y otoño (2016).

Según Prepelitchi (2009), la cantidad de caracoles varían según la estación del año, esto se puede corroborar en la tabla N° 17 y figuras Ns° 16 y 17, resultado que posiblemente depende de la alta pluviosidad de algunas estaciones, especialmente en el invierno, y características del entorno de desarrollo para los caracoles Lymnaeidos huéspedes intermediarios de *F. hepatica* según Beck et al. (2000) y Tran et al. (2002).

Caracterización molecular de los caracoles Lymaneidos recolectados en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, en las estaciones de invierno - primavera (2015) y verano - otoño (2016).

Pseudosuccinea columella se distribuye en todo el mundo y tiene una alta capacidad invasiva, (Pointier et al., 2007), en Perú lo encontramos en Tingo María (Larrea et al., 2007, Tantaleán et al., 2000), sin embargo tiene mayor preferencia por desarrollarse en Las características ecológicas son muy importantes para el desarrollo de los caracoles Lymnaeidos, tal es el caso de *Lymnaea schirazensis* (sinónimo de *Galba schirazensis*) (Küster, 1862), el mismo que pertenece al grupo Galba/Fossaria debido a sus características morfológicas, anatómicas y filogenéticas (Bargues et al, 2011, Glöer y Pešić, 2012), el cual se desarrolla en un amplio rango de hábitats, en diferentes altitudes, con un pronunciado comportamiento terrestre ya que casi nunca se encuentra en el agua, lo encontramos en las hierbas, lugares poco húmedos como barro, canales de cemento con poca o nada de vegetación, canales de drenaje, edificios y viviendas con pequeño riego artificial; está presente también en las patas del ganado o en granjas de animales, en los bordes de ríos y arroyos con corrientes

rápidas, arrastrado desde las zonas altas, adaptándose a las características ecológicas, por su capacidad de migración y distribución geográfica. Este caracol (*Lymnaea schirazensis*) puede ser transportado por el ganado y la actividad humana como *Galba truncatula* y las características de hábitat en ambos caracoles son similares y han sido confundidas en el viejo mundo (Bargues et al., 2011, Mas-Coma et al., 2009a).

Pseudosuccinea columella se distribuye en todo el mundo y tiene una alta capacidad invasiva (Pointier et al., 2007), en Perú lo encontramos en Tingo María (Larrea et al., 2007, Tantaleán et al., 2000), sin embargo tiene mayor preferencia por desarrollarse en medios naturales (Vásquez et al., 2009), con presencia muy escasa en los lugares en donde habita (Vásquez et al., 2013). Es un caracol de interés médico por su alta eficacia como huésped intermediario para *F. hepatica* (Linnaeus, 1758, citado por Zarco et al., 2011). Este molusco por la morfología y morfometría de su concha es inconfundible (Castellanos y Landoni et al., 1981, Paraense, 1994).

Artigas et al. (2011); Bargues et al. (2011) y Bargues et al. (2012). Observaron que los marcadores moleculares ribosomales ITS1 e ITS2 y el marcador mitocondrial COX1, son herramientas muy eficaces para identificar molecularmente especies de Lymnaeidos. En Cajamarca fueron identificados molecularmente tres especies de caracoles: *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* y *Lymnaea schirazensis* (Bargues et al., 2012) (ver figuras N°s 18, 19, 20, 21, 22 y tabla N° 18). Estos estudios concuerdan con los resultados obtenidos en la presente investigación, debido a que usando el marcador ADNr ITS-2 se caracterizaron molecularmente los caracoles recolectadas en las zonas de estudios durante las estaciones de invierno - primavera (2015) y verano - otoño (2016), identificando las especies *Galba truncatula*, *Galba schirazensis* y *Pseudosuccinea columella*, esta última no reportada molecularmente antes en esta área. Bargues et al. (2001), describen la capacidad que tiene este caracol

de ser un transmisor tanto para *F. hepatica* como para *Fasciola gigantica*, encontrándose en Perú naturalmente infectado (Larrea et al., 2007).

Las especies identificadas estuvieron distribuidas en diferentes caseríos de la provincia de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, observando que las características fisicoquímicas de las aguas de los canales de regadío, la temperatura, precipitación y humedad del ambiente y todas las condiciones ecológicas de estas zonas son adecuadas para el desarrollo de estos moluscos durante las 4 estaciones del año, lo que nos podría hacer suponer que los casos de fascioliasis en los lugares estudiados podrían presentarse durante todo el año, debido a los huéspedes intermediarios caracterizados molecularmente.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

1. Se realizó un estudio ecológico y molecular de los Lymnaeidos hospederos intermediarios de *F. hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba-Perú, observando que las tres provincias tienen las características ecológicas adecuadas para el desarrollo de los moluscos durante todo el año. Se identificaron molecularmente tres especies: *Pseudosuccinea columella*, *Galba truncatula* y *Galba schirazensis*.
2. Los factores ecológicos son adecuados para el desarrollo de los Lymnaeidos hospederos intermediarios de *F. hepatica* en las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba - Perú, durante las cuatro estaciones del año, por las características fisicoquímicas adecuadas del agua en donde se desarrollan, como la temperatura, pH, conductividad eléctrica, turbiedad, demanda bioquímica de oxígeno 5 (DBO5), sólidos en suspensión, sulfatos, nitritos, nitratos, sodio, potasio, calcio y magnesio; y de la latitud, altitud, temperatura y humedad del ambiente, observando mayor presencia de éstos en otoño (2016).
3. Las especies recolectadas de Lymnaeidos hospederos intermediarios de *F. hepatica* identificadas molecularmente en las zonas de estudio fueron *Galba truncatula*, *Galba schirazensis* y *Pseudosuccinea columella*, esta última encontrada solo en la provincia de Cajamarca (caserío Tinajones bajo).

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de la relación existente entre las especies de moluscos intermediarios de *Fasciola hepatica* identificadas con la infección en humanos y animales.
2. Continuar con estudios que identifiquen la expansión de la fascioliasis en la región Cajamarca y de localidades aledañas.
3. Continuar el estudio en zonas de Cajabamba para poder relacionar la fascioliasis con los caracoles de la especie *Galba schirazensis* encontrados en tres caseríos estudiados.

LISTA DE REFERENCIAS

- Abrous, M., Rondelaud, D. & Dreyfuss, G. 2001. The stress of *Lymnaea truncatula* just before miracidial exposure with *Fasciola hepatica* increased the prevalence of infection. *Experimental Parasitology*, 99, 49-51.
- Afshan, k., Fortes-Lima C., Artigas P., Valero M., Qayyum M & Mas-Coma S. 2014. Impact of climate change and man-made irrigation systems on the transmission risk, long-term trend and seasonality of human and animal fascioliasis in Pakistan. *Geospatial Health*, 8 (2): 317-334.
- Almeida, N., Lima, M., Peixoto, R. y Barradas, R. ed.1998. Teoría epidemiológica hoje: fundamentos, interfaces e tendências. Río de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p.256.
- Andrews, S. 1999. The life cycle of *Fasciola hepatica*. En: Fasciolosis, J. P. Dalton (Ed). London, UK, CABI International, 544.
- Artigas, P., Bargues D., Mera R., Agramunt V., Mas-Coma S. 2011. Characterisation of fascioliasis lymnaeid intermediate hosts from Chile by DNA sequencing, with emphasis on *Lymnaea viator* and *Galba truncatula*. *Acta Tropica*, 120:245-257.
- Bargues, MD., Funatsu, I., Oviedo, J. & Mas-Coma, S. 1996. The human host, a viable definitive host for *Fasciola hepatica* in the Northern Bolivian Altiplano. *Parassitologia*, 38: 252.
- Bargues, MD., Artigas, P., Mera, R., Sierra, R., Pointier J., Mas-Coma, S. 2007. Characterisation of *Lymnaea cubensis*, *L. viatrix* and *L. neotropica* n. sp., the main vectors of *Fasciola hepatica* in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 101 (7): 621–641.
- Bargues, MD., Artigas, P., Khoubbane, M., Flores, R., Glöer, P., Rojas-Garcia, R., Ashrafi, K., Falkner, G. & Mas-Coma, S. 2011. *Lymnaea schirazensis*, an overlooked snail distorting fascioliasis data: genotype, phenotype, ecology, worldwide spread, susceptibility, applicability. *PLoS ONE*, 6 (9): e24567.
- Bargues, MD., Artigas, P., Khoubbane, M., Mas-Coma, S. 2011. DNA sequence characterization and phylogeography of *Lymnaea cousin* and related species,

- vectores of fascioliasis northern Andean countries, with description of *Lymnaea meridensis* n. sp. (Gastropoda: Lymnaeidae). *Parasites and Vectors*, 4:132. 1-22.
- Bargues, MD. 2011. Marcadores moleculares para la distinción de *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*. *Biomédica*, 31 (Supl. 3): 176-178.
- Bargues, MD., Mera, y Sierra, R., Artigas, P. & Mas-Coma, S. 2012. DNA multigene sequencing of topotypic specimens of the fascioliasis vector *Lymnaea diaphana* and phylogenetic analysis of the genus *Pectinidens* (Gastropoda). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107 (1): 111-124.
- Bargues, MD., Artigas, P., Khoubbane, M., Ortiz, P., Náquira, C., Mas-Coma, S. 2012. Molecular characterization of *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* and *L. schirazensis* from Cajamarca, Peru and their potential role in transmission of human and animal fascioliasis. *Parasites & Vectors*, 5:174, 1-16.
- Beck, L., Lobitz, B., Wood, B. 2000. Remote sensing and human health: new sensors and new opportunities. *Emerg Infect Dis*; 6(3): 217-27.
- Boray, J. 1969. Experimental fasciolosis in Australia. *Advances in Parasitology*, 7:95-210.
- Boray, J. 1981. Fasciolosis and other trematode infections. I. Recent advances in research on *Fasciola* and other trematodes of animals. In: *Review of Advances in Parasitology* (W. Slusarsky ed). Pp. 317-339. Polish Scientific Publishers, Warszawa, 195.
- Carnevali, R. 1994. Fitogeografía de la Provincia de Corrientes. Corrientes, Argentina, Edic. del autor, Gobierno de la provincia de Corrientes, INTA, 324.
- Caron, Y., Lasri, S., & Losson, B. 2007. *Fasciola hepatica*: An assessment on the vectorial capacity of *Radix labiata* and *R. balthica* commonly found in Belgium. *Veterinary Parasitology*, 149:95-103.
- Carrada-Bravo, T. 2003, Fascioliasis. Diagnóstico, epidemiología y tratamientos. *Rev Gastroenterol Mex*, 8: 135-142.

- Castellanos, Z. & Landoni, N. 1981. Mollusca Gastropoda Lymnaeidae. Fauna de Agua Dulce de la República Argentina, pp. 55-82
- Chen, M. & Mott, K. 1990. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. Trop. Dis. Bull., 87: R1-R38.
- Claxton, J., Zambrano, H., Ortiz, P., Amorós, C., Delgado, E., Escurra, E. & Clarkson, M. 1997. The epidemiology of fasciolosis in the inter-Andean valley of Cajamarca, Peru. Parasitology International, 46: 281-288.
- Claxton, J., Sutherst, J., Ortiz, P. & Clarkson, M. 1999. The Effect of Cyclic Temperatures on the Growth of *Fasciola hepatica* and *Lymnaea viatrix*. The Veterinary Journal, 157:166-171.
- Cordero del Campillo, M., Rojo, F. 2002. Parasitología Veterinaria. 3a ed. Madrid.: Mc Graw Hill. Interamericana.
- Dalton, J. & McManus, D. 2006. Las vacunas contra la trematodos zoonótica *Schistosoma japonicum*, *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica*. Parasitology, 133, 43-61.
- Duffy, T., Kleiman, F., Pietrokovsky, S., Issia, L., Schijman, A. & Wisnivesky-Colli, C. 2009. Real - time PCR strategy for rapid discrimination among main lymnaeid species from Argentina. Acta Tropica, 109:1-4.
- Iltis, A. 1991. *El Lago Titicaca: síntesis del conocimiento limnológico actual*. La Paz: Claude Dejeux, A. Iltis, pp. 107-343
- Espinoza, J., Timoteo, O., Herrera-Velit, P. 2005. Fas2-ELISA in the detection of human infection by *Fasciola hepatica*. J Helminthol, 79(3):235-40.
- Esteban, J., Bargues, M., & Mas-Coma, S. 1998. Geographical distribution, diagnosis and treatment of human fascioliasis: a review. Research and Reviews in Parasitology, 58 (1):13-42.
- Esteban, J., González, C., Bargues, MD., Angles, R., Sánchez, C., Náquira, C. et al. 2002. High fascioliasis infection in children linked to a man-made irrigation zone in Peru. Trop Med Int Health, 7(4):339-48.

- Estuningsih, S., Smooker, P., Wiedosari, E., Widjajanti, S., Vaiano, S., Partoutomo, S., & Spithill, T. 1997. Evaluation of antigens of *Fasciola gigantica* as vaccines against tropical fasciolosis in cattle. *International Journal for Parasitology*, 27: 1419-1428.
- Flores, R., Reyes, L. & Guzmán, V. 2008. *Ecología y medio ambiente*, Cengage Learning Editores, 184.
- Fuentes, M., Valero, M., Bargues, MD., Esteban, J., Angles, R., Mas-Coma, S. 1999. Analysis of climatic data and forecast indices for human fascioliasis at very high altitude. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 93: 835–850.
- Giménez, T., Núñez, A., Chamorro, N., Alarcón, G. 2014. Estudio de la infección natural por *Fasciola hepatica* en *Lymnaea* spp. en el distrito de Yabebyry, departamento de Misiones Paraguay. *Compendio de veterinarias. Compend. Cienc. Vet.*, 04 (02): 14 – 18.
- Glöer, P. & Pešić, V. 2012. The freshwater snails (Gastropoda) of Iran, with descriptions of two new genera and eight new species. *Zoo Keys*, 219:11-61.
- González, L., Esteban, J., Bargues, M., Valero, M., Ortiz, P., Náquira, C., & Mas-Coma, S. 2011. Hyperendemic human fascioliasis in Andean valleys: An altitudinal transect analysis in children of Cajamarca province, Peru. *Acta Tropica*, 120:119-129.
- Hardman, E., Jones, R., Davies, A. 1970. Fascioliasis, a large outbreak. *British Medical Journal*, 3:502-505.
- Harris, R. & Charleston, W. 1977. The response of the freshwater gasteropods *Lymnaea tomentosa* and *L. columella* to desiccation, *J. Zool., London*, 183:41-46.
- Hopkins, D., 1992. Homing in on helminths. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 46, 626-634.
- Issia, L., Pietrokovsky, S., Kleiman, F., Carmanchahi, P. & Wisnivesky-Colli, C. 2008. *Galba truncatula* Müller, 1774 (Pulmonata: Lymnaeidae) in Argentina: Presence and Natural Infection by *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Tremátoda: Digenea), *The Veliger*, 50 (3):185-189.

- Islam, M., Port G. & McLachlan, A. 2001. The Biology of *Lymnaea peregra* (Muller) (Gastropoda:Pulmonata: Basommatophora) with Special Reference to the Effects of Herbicides on its Reproduction. *Journal of Biological Sciences*, 1 (6):532-540.
- Jokinen, E. 1978. The aestivation pattern of a population of *Lymnaea elodes* (Say) (Gastropoda: Lymnaeidae), *American Midland Naturalist*, 100 (1):43-53.
- Keiser, J., Utzinger, J. 2005. Emerging foodborne trematodiasis. *Emerg Infect Dis*, 11(10):1507-14.
- Küster, H., 1862. “Die Gattungen Limnaeus, Amphipeplea, Chilina, Isidora und Physopsis”. In: Martini, Chemnitz, editors. *Systematisches Conchylien-Cabinet* 2nd Edition, Bauer & Raspe, Nürnberg I.17 b: issues 180-182: 1-48, plates 1-11 (1862); issue 184: 49-77, plate 12 (1863).
- Larrea, H., Oviedo, M. & Huamán M. 1990. Observaciones morfológicas de *Fossaria viatrix* (Orbigny, 1835) agente etiológico de la fascioliasis en el Perú, *Boletín Epidemiológico Lima*, 72:33-37.
- Larrea, H., Flórez, M., Vivar, R., Huamán, P. & Velásquez, J. 2007. Hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en Perú. *Revista Horizonte Médico*, 7(1): 39–46.
- Lazara, R., Vázquez, A., & Robertson, L. 2009. Fascioliasis: can Cuba conquer this emerging parasitosis. *Trends in Parasitology*, 26 N° 1, 26-34.
- Londoño, P., Chávez, A., Li, O., Suárez, F., Pezo, D. 2009. Presencia de caracoles Lymnaeidae con formas larvarias de *Fasciola hepatica* en altitudes sobre los 4000 msnm en la sierra sur del Perú. *Revista de Investigación Veterinaria del Perú*, 20 (1): 58-65.
- Londoño, A., Giraldo, G. & Gutiérrez, A. 2010. Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua. *Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales*, 1:35-42.
- Malek, E. 1985. Fascioliasis and its snail hosts. En: *Snails host of Schistosomiasis and other snail transmitted diseases*, E. A. Malek (Ed). Washington, Tropical America: A manual, PAHO, 325.

- Maniatis, T., Fritsch, E., Sambrook, J. 1982. Molecular cloning: A laboratory manual. 3° ed. New York: cold spring harbor laboratory, Cap. 7, 609-617.
- Mantari, C., Chávez, A., Suárez, F., Arana, C., Pinedo, R., Ccenta, R. 2012. Fasciolosis en niños de tres distritos del departamento de Junín, Perú, Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 23(4): 454-461.
- Marcos, L., Maco, V., Florencio, L., Terashima, A. 2005. Altas tasas de prevalencia de fasciolosis humana en el Perú: Una enfermedad emergente. Revista Peruana Enfermedades Infecciosas Tropicales, 3:8-13.
- Marcos, L., Romani, L., Florencio, L., Terashima, A., Canales, M., Nestares, J. 2007. Zonas hiperendémicas y mesoendémicas de la infección por *Fasciola hepatica* aledañas a la ciudad de Lima: una enfermedad emergente. Rev Gastroenterol Perú, 27(1):21-26.
- Marcos, L., Tagle, M., Terashima, A., Bussalleu, A., Ramírez, C., Carrasco, C. 2008. Natural history, clinicoradiologic correlates, & response to triclabendazole in acute massive fascioliasis. Am J Trop Med Hyg, 78(2):222- 27.
- Mas-Coma, S., Esteban, J. & Bargues, MD. 1999a. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. Bull. World Health Organ, 77: 340-346.
- Mas-Coma, S., Anglés, R., Esteban, J., Bargues, MD., Buchon, P., Franken, M. et al. 1999b. The Northern Bolivian Altiplano: a region highly endemic for human fascioliasis. Trop Med Int Health, 4:454-67.
- Mas-Coma, S., Funatsu, I., Bargues, MD. 2001. *Fasciola hepatica* and lymnaeid snails occurring at very high altitude in South America. Parasitology, 123:115-127.
- Mas-Coma, S., 2004. Human fascioliasis: epidemiological patterns in human endemic areas of South America, Africa and Asia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health, 35 (Suppl. 1), 1–11.
- Mas-Coma, S., Bargues, M., & Valero, M. 2005. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. International Journal for Parasitology, 35:1255-1278.

- Mas-Coma, S., Bargues, M. & Valero, M., 2007. Plant-Borne Trematode Zoonoses: Fascioliasis and Fasciolopsiasis. In: Food-Borne Parasitic Zoonoses, Fish and Plan-Borne Parasites, World Class Parasites, Vol. 11. (D. Murrel & B. Fried eds). Pp. 293-334. New York: Springer Verlag.179.
- Mas-coma, S., Valero, M. & Bargues, M. 2008. Effects of climate changes on animal and zoonotic helminthiasis. Review Scientific Technical, 27: 443-457.
- Mas-Coma, S., Valero, M., Bargues, MD. 2009a. Fasciola, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. Adv Parasitol, 69:41-146.
- Mas-Coma, S., Valero, M., Bargues, MD. 2009b. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. Vet Parasitol, 163: 264-280.
- Mas-Coma, S. 2011. Heterogeneidad epidemiológica de la Fascioliasis humana: diferentes patrones de transmisión, con énfasis en América Latina. Biomédica, 31 (Supl. 3): 173-176.
- Mattos, M., Ueno, H. 1986. Relacao entre idade e susceptibilidade de *Lymnaea columella* frente as infeccoes experimentais por *Fasciola hepatica*, A hora veterinaria, 6(33):16-20.
- Minchella, D., Leathers, B., Brown, K., McNair, J. 1985. Host and parasite conteradaptations: an example from freshwater snail. The American Naturalist, 126(6):843-854.
- Ministério Da Saúde, 2008. Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica: Diretrizes Técnicas, 2 Ed. Brasilia DF: MS.
- Müller, O. 1774. Vermivm terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia. Havniæ (Copenhagen) & Lipsiæ (Leipzig), Heineck & Faber, 1: 1-214.
- Ollerenshaw, C. 1971. The influence of climate on the life cycle of *Fasciola hepatica* in Britain with some observations on the relationship between climate and the

- incidence of Fasciolosis in the Netherlands. In: Facts and Reflections, Symposium Proceedings. Lelystad, pp: 41–63.
- Ollerenshaw, C. 1974. Forecasting liver-fluke disease. In: The effects of meteorological factors upon parasites, symposium of the British Society for Parasitology. Taylor AR, Muller R (eds). Blackwell Scientific Publications, Oxford, 33-52.
- Ortiz, P. 2011. Estado actual de la infección por *Fasciola hepatica* en Cajamarca, Perú. XX congreso Latinoamericano de Parasitología: Simposio *Fasciola hepatica*. Biomédica, 31(sup.3):3-315.
- Oscoz, J., Araujo, R., Martínez, A., Delicada, D., López, M., De la Iglesia, B., Lanao, M., López, A., Moreno, D., Pérez, R., Ribarrocha, V., Velasco, J., Ramos, A. 2012. Guía de campo moluscos del Ebro. Universidad de Navarra, 1a. ed. (España):77-84.
- Paraense, L. 1983. *Lymnaea columella* in northern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, 78 (4):477-482.
- Paraense, W. 1994. *Limnaea peregrina* Clesin, 1882, Synonym of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Gastropoda: Lymnaeidae). Mem Instituto Oswaldo Cruz, 89(4): 561-566.
- Pointier, J., Coustau, D., Rondelaud, C. & Theron, A. 2007. *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) (Gastropoda, Lymnaeidae), snail host of *Fasciola hepatica*: first record for France in the wild. Parasitology Research, 101(5): 1389–1392.
- Prepelitchi, L. 2009. Ecoepidemiología de *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) en el norte de la provincia de Corrientes destacando aspectos ecológicos de *Lymnaea columella* (Pulmonata, Lymnaeidae) y su rol como hospedador intermediario. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Rabinovich, J. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. 2Ed. Consejo Nacional para la Enseñanza de la Biología. México, pp. 313.

- Remigio, E. & Blair, D. 1997. Molecular systematics of the freshwater snail family Lymnaeidae (Pulmonata: Basommatophora) utilising mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Journal of Molluscan Studies*, 63:173-185.
- Rodríguez J. & Marín R. 1999. *Fisicoquímica de aguas*. Ed. Díaz de Santos, Madrid, pp. 466.
- Rodríguez-Morales, A. 2005. Ecoepidemiología y epidemiología satelital: nuevas herramientas en el manejo de problemas en salud pública. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*, 22(1).
- Rokni, M. 2008. The present status of human helminthic diseases in Iran. *Ann Trop Med Parasitol*, 102(4):283-95.
- Say, T. 1817. *Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 1(1-2): 13-18.
- Smith, K., Dobson, A., McKenzie, F., Real, L., Smith, D. & Wilson, M. 2005. Ecological theory to enhance infectious disease control and public health policy. *Front Ecol Environ*, 3:29-37.
- Snoeyink V. & Jenkins D. 2002. *Química del agua*, 8va Edición, Limusa, México, pp. 510.
- Sokolina, F., Zumaquero, J., Ignatieva, G., Neftalí, C., Trinidad, J., Cabrera, H., Tay, J. 2012. Estudio de los tejidos de moluscos *Lymnaea truncatula* y *Lymnaea cubensis* infectados por miracidios de *Fasciola hepatica*. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 6-10.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater. 1998, 20 th Edition, 2-43.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater. 1995, 19 th Edition, 2-43.
- Procedimientos simplificados para el análisis de aguas. Manual de laboratorio, Organización Panamericana de la Salud, 1978.

- Tantaleán, M., Arrojo, L., Miranda, E. 2000. *Lymnaea columella* como huésped intermediario de *Fasciola hepatica* en el Perú. *Revista Peruana de Parasitología* 15: 33-35.
- Teixeira, T., Rosa, J., Rainha, N., Baptista, J. & Rodriguez, A. 2012. Assessment of molluscicidal activity of essential oils from five Azorean plants against *Radix peregra* (Müller, 1774). *Chemosphere*, 87, 1-6.
- Torgerson, P. & Claxton, J. 1999. Epidemiology and control. En: Fasciolosis. J. P. Dalton (Eds). London, UK, CABI International, 544.
- Tran, A., Gardon, J., Weber, S., Polidori, L. 2002. Mapping disease incidence in suburban areas using remotely sensed data. *Am J Epidemiology*, 156(7): 662-68.
- Traub, R., Monis, P. & Robertson, L. 2005. Molecular epidemiology: A multidisciplinary approach to understanding parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 35:1295-1307.
- Valero, M., Pérez-Crespo, I., Khoubbane, M., Artigas, P., Panova, M., Ortiz, P., Maco, V., Espinoza, J. & Mas-Coma, S. 2012. *Fasciola hepatica* phenotypic characterisation in Andean human endemic areas: valley versus altiplanic patterns analysed in liver flukes from sheep from Cajamarca and Mantaro, Peru. *Infection, Genetics and Evolution*, 12: 403-410.
- Valencia, N., Pariona, A., Huamán, M., Miranda, F., Quintanilla, S. & Gonzáles, A. 2005. Seroprevalencia de fasciolosis en escolares y en ganado vacuno en la provincia de Huancavelica, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22(2):96-102.
- Van-Someren, V. 1946. The Habitats and Tolerance Ranges of *Lymnaea (Radix) caillaudi*, the Intermediate Snail Host of Liver Fluke in East Africa. *The Journal of Animal Ecology*, 15 (2):170-197.
- Vázquez, A., Sánchez, J., Hevia, Y. 2009. Distribución y preferencia de hábitats de moluscos hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en Cuba. Instituto De Medicina Tropical “Pedro Kouri”. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3):248-53.

- Vásquez, R., Diéguez, L., Del Risco, U., Fimia, R., Vásquez, A. 2013. *Pseudosuccinea columella* (Mollusca: Gastropoda: Lymnaeidae) en Camagüey. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 65(3): 388-393.
- Vicente, F. 1968. Datos sobre la ecología de *Lymnaea truncatula* y la evolución larvaria de *Fasciola hepatica*, en una zona de regadío. *Rev. Iber. de Parasitología*, Tomo 28, 333-346.
- Villegas, L. 1984. Estudio Físico – Químico del Medio Ecológico del Caracol *Lymnaea viatrix*, en el Valle de Cajamarca. Tesis par optar el Título Profesional de Médico Veterinario, Universidad Nacional de Cajamarca.
- Zarco, A., Fantozzi, M. & Cuervo, P. 2011. Gastropoda, Pulmonata, Lymnaeidae, *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817): First record in Córdoba province, central Argentina. *Journal of species lists and distribution*, 7(4): 391-393.
- Zilch A. 1959. Gastropoda (Euthyneura). In: Schindewolf (Ed), *Handbuch der paleozoologie*, Borntraeger, Berlin, Germany, vol. 6, 91-102.

APÉNDICES

Anexo N° 01. Tablas estadísticas según ANOVA de los análisis fisicoquímicos del agua:

- **Turbiedad**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	75.45	18.8625	507.758025
Columna 2	4	19.76	4.94	14.5192667
Columna 3	4	14.7	3.675	17.9675667
Columna 4	4	20.36	5.09	45.1871333
Columna 5	4	4.85	1.2125	0.269025
Columna 6	4	20.71	5.1775	49.219425
Columna 7	4	191.74	47.935	8232.5955
Columna 8	3	1.81	0.60333333	0.07293333
Columna 9	4	64.52	16.13	529.758533
Columna 10	4	176.9	44.225	6275.96843
Columna 11	4	45.16	11.29	62.7542
Columna 12	4	31.18	7.795	92.2901667
Columna 13	4	25.27	6.3175	12.996825
Columna 14	4	115.04	28.76	717.662067
Columna 15	4	46.34	11.585	120.887233

ANALISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	12250.5481	14	875.039148	0.77	0.6946	1.92357215
Dentro de los grupos	50039.6461	44	1137.26468			

- pH

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	31.37	7.8425	0.36049167
Columna 2	4	32.05	8.0125	0.11429167
Columna 3	4	30.8	7.7	0.65206667
Columna 4	4	32.01	8.0025	0.016425
Columna 5	4	31.54	7.885	0.14816667
Columna 6	4	32.62	8.155	0.0879
Columna 7	4	32.98	8.245	0.03103333
Columna 8	3	21.93	7.31	0.0036
Columna 9	4	31.94	7.985	0.0535
Columna 10	4	31.14	7.785	0.14696667
Columna 11	4	28.37	7.0925	0.09249167
Columna 12	4	32.21	8.0525	0.10815833
Columna 13	4	31.54	7.885	0.0239
Columna 14	4	32.24	8.06	0.1482
Columna 15	4	32.5	8.125	0.1407

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5.12358941	14	0.36597067	2.52	0.0098	1.92357215
Dentro de los grupos	6.380075	44	0.1450017			
Total	11.5036644	58				

- **Temperatura**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	73.4	18.35	0.73666667
Columna 2	4	72.3	18.075	0.72916667
Columna 3	4	69.4	17.35	0.19666667
Columna 4	4	70.5	17.625	0.9825
Columna 5	4	82.1	20.525	15.6891667
Columna 6	4	68.8	17.2	0.43333333
Columna 7	4	73.4	18.35	3.29666667
Columna 8	3	55.8	18.6	8.68
Columna 9	4	84.5	21.125	12.5091667
Columna 10	4	84	21	13.18
Columna 11	4	75.5	18.875	11.7425
Columna 12	4	81.3	20.325	13.4225
Columna 13	4	71.47	17.8675	62.4068917
Columna 14	4	69.4	17.35	51.0233333
Columna 15	4	72.29	18.0725	62.875025

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	103.799714	14	7.41426531	0.43	0.9574	1.92357215
Dentro de los grupos	765.03075	44	17.3870625			
Total	868.830464	58				

- **Conductividad:**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	4	1889	472.25	110175.583
Columna 2	4	1310	327.5	640.333333
Columna 3	4	1126	281.5	3999
Columna 4	4	1553	388.25	1585.58333
Columna 5	4	836.05	209.0125	18303.9673
Columna 6	4	1331	332.75	7352.91667
Columna 7	4	820.5	205.125	6513.72917
Columna 8	3	1303	434.333333	580.333333
Columna 9	4	1765	441.25	86334.9167
Columna 10	4	1227	306.75	12488.25
Columna 11	4	263.1	65.775	488.175833
Columna 12	4	1623	405.75	4066.91667
Columna 13	4	2544	636	5106.66667
Columna 14	4	1762	440.5	2667
Columna 15	4	1735	433.75	2608.91667

ANALISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1033529.05	14	73823.5036	4.12	0.0002	1.92357215
Dentro de los grupos	788156.534	44	17912.6485			
Total	1821685.58	58				

- **Sulfatos**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	4	139.2	34.8	124.3
Columna 2	4	117.51	29.4	375.0
Columna 3	4	56.7	14.2	140.2
Columna 4	4	84.8	21.2	61.7
Columna 5	4	79.16	19.8	143.2
Columna 6	4	53.3	13.3	22.6
Columna 7	4	83.4	20.9	422.4
Columna 8	3	85.48	28.5	793.1
Columna 9	4	165.5	41.4	160.6
Columna 10	4	125.5	31.4	168.2
Columna 11	4	83.9	21.0	288.3
Columna 12	4	131.2	32.8	296.9
Columna 13	4	259.8	65.0	1109.4
Columna 14	4	174.7	43.7	28.1
Columna 15	4	174.4	43.6	251.1

ANALISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	10498.6	14	749.9	2.67	0.0066	1.923572148
Dentro de los grupos	12362.4	44	281.0			
Total	22861.0	58				

- **Nitratos**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	23	5.75	14.25
Columna 2	4	13	3.25	0.91666667
Columna 3	4	9	2.25	0.91666667
Columna 4	4	13	3.25	3.58333333
Columna 5	4	13	3.25	2.91666667
Columna 6	4	11	2.75	2.25
Columna 7	4	17	4.25	8.25
Columna 8	3	6	2	1
Columna 9	4	16	4	3.33333333
Columna 10	4	19	4.75	2.25
Columna 11	4	16	4	4.66666667
Columna 12	4	12	3	3.33333333
Columna 13	4	25	6.25	4.25
Columna 14	4	18	4.5	3
Columna 15	4	20	5	4

ANALISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	80.82627119	14	5.773305085	1.45	0.1733	1.923572148
Dentro de los grupos	175.75	44	3.994318182			
Total	256.5762712	58				

- **Nitritos**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	0.4	0.1	0
Columna 2	4	0.4	0.1	0
Columna 3	4	0.4	0.1	0
Columna 4	4	0.4	0.1	0
Columna 5	4	0.4	0.1	0
Columna 6	4	0.4	0.1	0
Columna 7	4	0.4	0.1	0
Columna 8	4	0.4	0.1	0
Columna 9	4	0.4	0.1	0
Columna 10	4	0.4	0.1	0
Columna 11	4	0.4	0.1	0
Columna 12	4	0.4	0.1	0
Columna 13	4	0.4	0.1	0
Columna 14	4	0.4	0.1	0
Columna 15	4	0.4	0.1	0

ANALISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5.66223E-31	14	4.04445E-32	65535	-----	1.918248556
Dentro de los grupos	0	45	0			
Total	5.66223E-31	59				

- **Demanda Bioquímica de Oxígenos 5 (DBO5)**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	4	26	6.5	3
Columna 2	4	16	4	0.66666667
Columna 3	4	10	2.5	1.66666667
Columna 4	4	15	3.75	8.25
Columna 5	4	12	3	4.66666667
Columna 6	4	11	2.75	2.25
Columna 7	4	22.2	5.55	51.0766667
Columna 8	3	5	1.66666667	1.33333333
Columna 9	4	20	5	0.66666667
Columna 10	4	23	5.75	8.25
Columna 11	4	15.2	3.8	3.89333333
Columna 12	4	16	4	3.33333333
Columna 13	4	18	4.5	1.66666667
Columna 14	4	26	6.5	7
Columna 15	4	24	6	18.6666667

ANALISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	119.5726554	14	8.540903955	1.08	0.4002	1.923572148
Dentro de los grupos	347.8266667	44	7.905151515			
Total	467.399322	58				

- **Sólidos Suspendidos Totales:**

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	4	70.1	17.525	453.3025
Columna 2	4	15.5	3.875	3.56916667
Columna 3	4	14.03	3.5075	10.5728917
Columna 4	4	18.38	4.595	32.1254333
Columna 5	4	10	2.5	1.66666667
Columna 6	4	16.55	4.1375	24.995625
Columna 7	4	158.92	39.73	5805.39027
Columna 8	3	4	1.33333333	0.33333333
Columna 9	4	51.3	12.825	313.5225
Columna 10	4	149.4	37.35	4505.95667
Columna 11	4	33.2	8.3	40.36
Columna 12	4	26.25	6.5625	57.225625
Columna 13	4	21.31	5.3275	7.721025
Columna 14	4	78.5	19.625	270.269167
Columna 15	4	35.2	8.8	95.92

ANALISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	8116.774591	14	579.7696136	0.73	0.7318	1.923572148
Dentro de los grupos	34868.45927	44	792.4649833			
Total	42985.23386	58				

- **Sodio**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	12.91	3.2275	0.33489167
Columna 2	4	12.35	3.0875	0.03209167
Columna 3	4	7.44	1.86	0.2186
Columna 4	4	9.69	2.4225	0.34809167
Columna 5	4	8.94	2.235	0.14976667
Columna 6	4	8.91	2.2275	0.57489167
Columna 7	4	11.74	2.935	1.89576667
Columna 8	3	4.65	1.55	0.2223
Columna 9	4	13.42	3.355	0.7203
Columna 10	4	11.39	2.8475	0.22515833
Columna 11	4	11.95	2.9875	1.133425
Columna 12	4	11.07	2.7675	0.123425
Columna 13	4	12.37	3.0925	0.56369167
Columna 14	4	14.25	3.5625	0.63009167
Columna 15	4	13.33	3.3325	0.019425

ANALISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	17.691872	14	1.26370515	2.60	0.0079	1.92357215
Dentro de los grupos	21.35345	44	0.48530568			
Total	39.045322	58				

- **Potasio**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	6.02	1.505	0.22203333
Columna 2	4	6.33	1.5825	0.10735833
Columna 3	4	4.4	1.1	0.16386667
Columna 4	4	5.15	1.2875	0.30989167
Columna 5	4	4.67	1.1675	0.17209167
Columna 6	4	4.16	1.04	0.0248
Columna 7	4	6.54	1.635	0.33043333
Columna 8	3	3.34	1.11333333	0.07293333
Columna 9	4	7.02	1.755	0.3817
Columna 10	4	6.99	1.7475	0.23889167
Columna 11	4	6.64	1.66	0.2206
Columna 12	4	4.71	1.1775	0.147225
Columna 13	4	5.11	1.2775	0.28949167
Columna 14	4	6.2	1.55	0.1722
Columna 15	4	5.65	1.4125	0.13409167

ANALISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3.39436257	14	0.24245447	1.20	0.3094	1.92357215
Dentro de los grupos	8.88989167	44	0.20204299			
Total	12.2842542	58				

- **Calcio**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	221.9	55.475	45.2225
Columna 2	4	152.1	38.025	15.7158333
Columna 3	4	161.8	40.45	27.9633333
Columna 4	4	208.1	52.025	85.3491667
Columna 5	4	175.6	43.9	48.2466667
Columna 6	4	190.2	47.55	102.31
Columna 7	4	143.4	35.85	212.563333
Columna 8	3	168	56	97.23
Columna 9	4	314.3	78.575	6395.35583
Columna 10	4	194.3	48.575	133.629167
Columna 11	4	107.3	26.825	73.6825
Columna 12	4	210.7	52.675	214.709167
Columna 13	4	327.9	81.975	2589.7625
Columna 14	4	206.1	51.525	65.0758333
Columna 15	4	247.3	61.825	500.469167

ANALISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	12160.0953	14	868.578238	1.20	0.3062	1.92357215
Dentro de los grupos	31724.625	44	721.014205			
Total	43884.7203	58				

- **Magnesio**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	8.32	2.08	0.12693333
Columna 2	4	8.21	2.0525	0.18315833
Columna 3	4	6.68	1.67	0.13846667
Columna 4	4	7.71	1.9275	0.328225
Columna 5	4	7.1	1.775	0.33136667
Columna 6	4	7.02	1.755	0.1107
Columna 7	4	8.4	2.1	0.23466667
Columna 8	3	5.84	1.94666667	0.15063333
Columna 9	4	8.64	2.16	0.07526667
Columna 10	4	8.79	2.1975	0.05229167
Columna 11	4	9.21	2.3025	0.50989167
Columna 12	4	8.19	2.0475	0.08115833
Columna 13	4	9.04	2.26	0.18726667
Columna 14	4	8.82	2.205	0.02896667
Columna 15	4	8.89	2.2225	0.08475833

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2.11574605	14	0.15112472	0.86	0.6030	1.92357215
Dentro de los grupos	7.72061667	44	0.17546856			
Total	9.83636271	58				

- **Moluscos Lymnaeidos recolectados**

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	4	736	184	64798
Columna 2	4	25	6.25	60.9166667
Columna 3	4	6	1.5	1.66666667
Columna 4	4	51	12.75	214.916667
Columna 5	4	504	126	11726
Columna 6	4	42	10.5	52.33333333
Columna 7	4	198	49.5	3273
Columna 8	4	31	7.75	240.25
Columna 9	4	249	62.25	3930.25
Columna 10	4	89	22.25	104.25
Columna 11	4	164	41	808.666667
Columna 12	4	389	97.25	1756.91667
Columna 13	4	552	138	8740
Columna 14	4	364	91	2652
Columna 15	4	209	52.25	580.916667

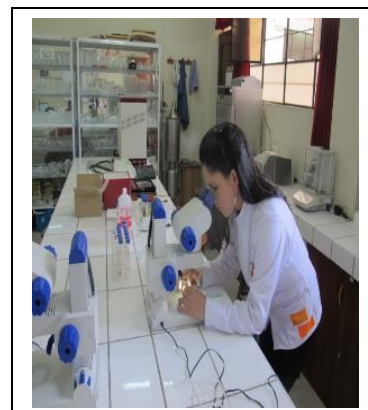
ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	175399.4	14	12528.5286	1.90	0.0526	1.91824856
Dentro de los grupos	296820.25	45	6596.00556			
Total	472219.65	59				

Anexo 02. Galería fotográfica del análisis de aguas. Análisis fisicoquímicos de las muestras de agua de los canales de regadío con los equipos de la empresa SEDACAJ.



Anexo 03. Galería fotográfica de los moluscos intermediarios de *Fasciola hepatica*. Al recolectar a los moluscos fueron identificados con la ayuda de un microscopio estereoscópico.



Anexo 04. Galería fotográfica de la selección de los moluscos intermediarios de *Fasciola hepatica* para su conservación en alcohol. Los moluscos fueron conservados en alcohol de 96°, para luego realizar la técnica de PCR convencional.



Anexo 05. Galería fotográfica del trabajo realizado en la técnica de PCR convencional. Ejecución del procedimiento para obtener ADN a través de la técnica de La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional.



Anexo 06: Mis Asesores de Tesis. En la fotografía del lado izquierdo El PhD. Santiago Mas-Coma y en la fotografía del lado derecho El PhD. Pedro Ortiz Oblitas.



Anexo 07: Parte del equipo de colaboradores del trabajo de investigación.

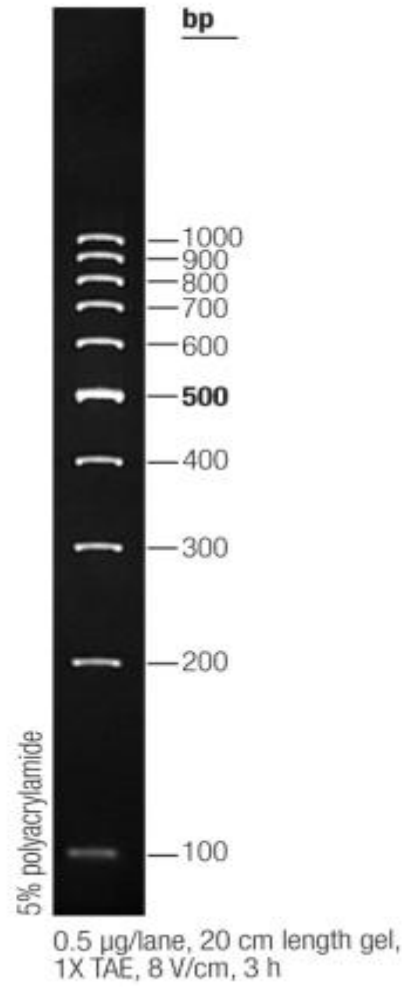
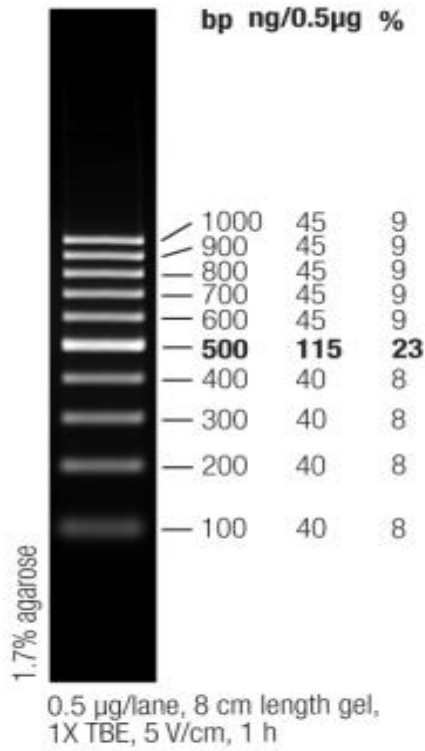


Anexo 08: Tabla comparativa de la taxonómica de moluscos Lymnaeidos

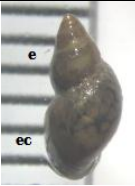
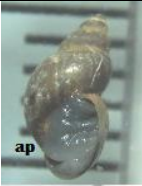







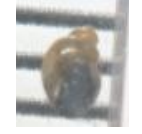






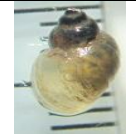



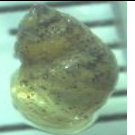

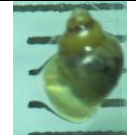



Tabla comparativa de la taxonómica de moluscos Lymnaeidos			
Reino:	Animalia	Animalia	Animalia
Phylum:	Mollusca	Mollusca	Mollusca
Class:	Gastropoda	Gastropoda	Gastropoda
Superfamily:	Lymnaeoidea	Lymnaeoidea	Lymnaeoidea
Family:	Lymnaeidae	Lymnaeidae	Lymnaeidae
Subfamily:	Lymnaeinae	Lymnaeinae	Lymnaeinae
Género:	<i>Galba</i>	<i>Galba</i>	<i>Pseudosuccinea</i>
Species:	<i>G. truncatula</i>	<i>G. schirazensis</i>	<i>P. columella</i>
Binomial name:	<i>Galba truncatula</i> (Müller, 1774)	<i>Galba schirazensis</i> (Küster, 1862)	<i>Pseudosuccinea columella</i> (Say, 1817)
Synonyms:	<i>Buccinum truncatulum</i> <i>Galba truncatula</i> <i>Lymnaea (Galba) truncatula</i> <i>Lymnaea truncatula</i>	<i>Limnaeus Schirazensis</i> <i>Lymnaea schirazensis</i>	<i>Lymnaea columella</i> <i>Lymnaea ubaquensis</i>










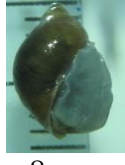
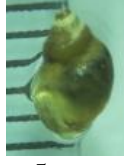
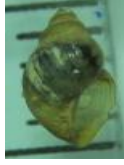
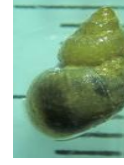
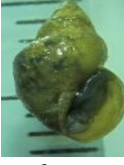
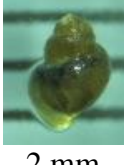


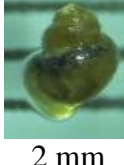



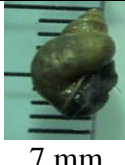







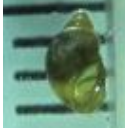


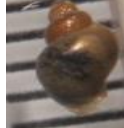
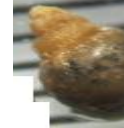

Anexo 09: Marcador de peso molecular






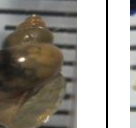

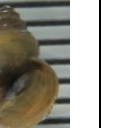




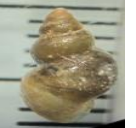



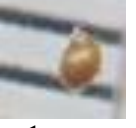







GeneRuler 100 bp DNA Ladder










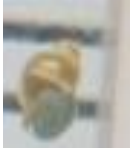



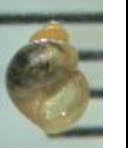



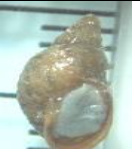
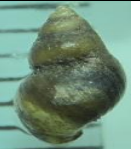
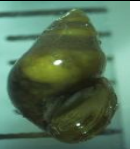



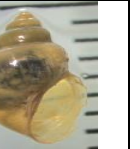
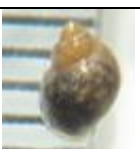


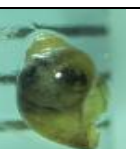


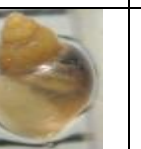

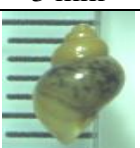
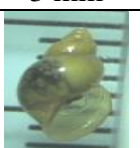
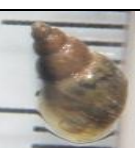
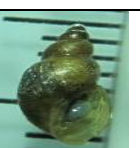


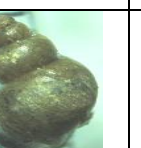
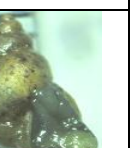




Anexo 10: Fotografía de los caracoles Lymnaeidos maduros e inmaduros recolectados en los canales de regadío de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, durante las estaciones de invierno – primavera (2015) y verano – otoño (2016).










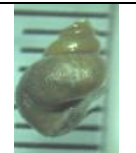
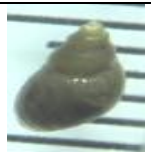
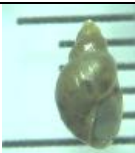


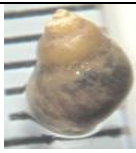

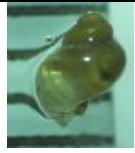

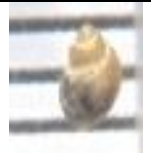



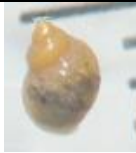

LUGAR DE RECOLECCIÓN	MADUREZ DE LOS MOLUSCOS	ESTACIÓN: INVIERNO (SETIEMBRE)		ESTACIÓN: PRIMAVERA (NOVIEMBRE)		ESTACIÓN: VERANO (MARZO)		ESTACIÓN: OTOÑO (MAYO)	
		A	B	A	B	A	B	A	B
LUGAR N°01: Pampa Larga	M. MADUROS	 5 mm	 5 mm	 6 mm	 6 mm	 10 mm	 10 mm	 7 mm	 7 mm
	M. INMADUROS	 2 mm	 2 mm	 3 mm	 3 mm	 4 mm	 4 mm	 3 mm	 3 mm
LUGAR N°02: Huayrapongo Grande	M. MADUROS	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	 6 mm	 6 mm	 8 mm	 8 mm	 5 mm	 5 mm
	M. INMADUROS	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	 3 mm	 3 mm	 5 mm	 5 mm	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros

LUGAR N°03: La Victoria	M. MADUROS	 10 mm	 10 mm	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	 6 mm	 6 mm	 7 mm	 7 mm
	M. INMADUROS	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	 6 cm	 6 cm
LUGAR N°04: Tinajones Bajo	M. MADUROS	 8 mm	 8 mm	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	 5 mm	 5 mm	 6 mm	 6 mm
	M. INMADUROS	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	 3 mm	 3 mm
LUGAR N°05: El Llimbe	M. MADUROS	 7 mm	 7 mm	 9 mm	 9 mm	 8 mm	 8 mm	 6 mm	 6 mm
	M. INMADUROS								

		3 mm	3 mm	4 mm	4 mm	4 mm	4 mm	4 mm	4 mm
LUGAR N°06: Tartar Chico	M. MADUROS	 8 mm	 8 mm	 9 mm	 9 mm	 7 mm	 7 mm	 6 mm	 6 mm
	M. INMADUROS	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	 2 mm	 2 mm	 5 mm	 5 mm	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros
LUGAR N°07: Namora	M. MADUROS	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	 7 mm	 7 mm	 7 mm	 7 mm
	M. INMADUROS	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	 1 mm	 1 cm	 2 cm	 2 cm
LUGAR N°08: La Manzanilla	M. MADUROS	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros	 7 mm	 7 mm	No se encontraron caracoles maduros	No se encontraron caracoles maduros
	M. INMADUROS	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros	 3 mm	 3 mm	No se encontraron caracoles inmaduros	No se encontraron caracoles inmaduros

LUGAR N°09: Rancho Grande	M. MADUROS	 4 mm	 4 mm	 5 mm	 5 mm	 4 mm	 4 mm	 4 mm	 4 mm
	M. INMADUROS	 1 mm	 1 mm	 2 mm	 2 mm	 3 mm	 3 mm	 3 mm	 3 mm
LUGAR N°10: Chuquiamo	M. MADUROS	 8 mm	 8 mm	 5 mm	 5 mm	 6 mm	 6 mm	 7 mm	 7 mm
	M. INMADUROS	 3 mm	 3 mm	 2 mm	 2 mm	 3 mm	 3 mm	 4 mm	 4 mm
LUGAR N°11: Sondor	M. MADUROS	 6 mm	 6 mm	 6 mm	 6 mm	 6 mm	 6 mm	 7 mm	 7 mm

	M. INMADUROS	 3 mm	 3 mm	 2 mm	 2 mm	 3 mm	 3 mm	 3 mm	 3 mm
LUGAR N°12: Colpón	M. MADUROS	 3 mm	 3 mm	 6 mm	 6 mm	 5 mm	 5 mm	 4 mm	 4 mm
	M. INMADUROS	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 3 mm	 3 mm	 2 mm	 2 mm
LUGAR N°13: Cholocal	M. MADUROS	 5 mm	 5 mm	 6 mm	 6 mm	 5 mm	 5 mm	 5 mm	 5 mm
	M. INMADUROS	 3 mm	 3 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm
LUGAR N°14: El Olivo	M. MADUROS	 3 mm	 3 mm	 6 mm	 6 mm	 4 mm	 4 mm	 5 mm	 5 mm

	M. INMADUROS	 1 mm	 1 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm	 2 mm
LUGAR N°15: El Tingo	M. MADUROS	 6 mm	 6 mm	 5 mm	 5 mm	 5 mm	 5 mm	 5 mm	 5 mm
	M. INMADUROS	 3 mm	 3 mm	 2 mm	 2 mm	 3 mm	 3 mm	 3 mm	 3 mm




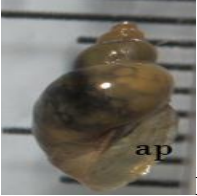


Leyenda:

A: vista dorsal **B:** vista ventral **ec=** espira del cuerpo **e=** espiral **ap=** apertura **Escala:** mm

Caseríos:

1. Pampa Larga **2.** Huayrapongo Grande **3.** La Victoria **4.** Tinajones Bajo **5.** El Llimbe **6.** Tartar Chico **7.** Namora **8.** La Manzanilla **9.** Rancho Grande **10.** Chuquiamo **11.** Sondor **12.** Colpón **13.** Cholocal **14.** El Olivo **15.** El Tingo

Anexo 11. Morfometría externa de los caracoles Lymnaeidos *Galba truncatula*, *Galba schirazensis* y *Pseudosuccinea columella*, encontrados en los canales de regadío de las provincias de Cajamarca, San Marcos y Cajabamba, durante las estaciones de invierno - primavera (2015) y verano - otoño (2016).

<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba schirazensis</i>	<i>Pseudosuccinea columella</i>
 <p>A 7 mm</p>	 <p>A 7 mm</p>	 <p>A 8 mm</p>
 <p>B 7 mm</p>	 <p>B 7 mm</p>	 <p>B 8 mm</p>

Leyenda:

A: vista dorsal **B:** vista ventral **ec=** espira del cuerpo **e=** espiral **ap=** apertura

Escala: mm