



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

**“Estado sanitario de tortugas dulceacuícolas de la familia
Chelidae en arroyos pampásicos de llanura y serranos con
distinto impacto de contaminación”**



Autora: Lic. Rocío María Sánchez
Directores: Dr. Leandro Alcalde y Dr. Gerardo C. Leynaud

Año 2022

De agua somos.

Del agua brotó la vida, los ríos son la sangre que nutre la tierra,

y están hechas de agua las células que nos piensan,

las lágrimas que nos lloran y la memoria que nos recuerda.

La memoria nos cuenta que los desiertos de hoy fueron los bosques de ayer,

y que el mundo seco supo ser mojado, en aquellos remotos tiempos en que

el agua y la tierra eran de nadie y eran de todos.

Los hijos de los días, Eduardo Galeano.

Agradecimientos

A la Educación Pública, gratuita y de calidad de nuestro país, que me permitió formarme y obtener un título universitario.

A la Universidad de La Plata y la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, donde estudié la carrera de Biología y continué mis estudios de posgrado.

A CONICET, por otorgarme la beca con la que pude dedicarme a realizar esta tesis doctoral.

A mis directores. A Leandro, por brindarme sus invaluable conocimientos sobre las tortugas y la naturaleza en general, por su guía, generosidad y compromiso en todo momento para que pueda lograr la realización de esta tesis. A Gerardo, por acompañarme a la distancia, por sus consejos y sugerencias, y por su colaboración en el trabajo de campo en su provincia natal.

A mis compañeras del Laboratorio de Herpetología. A Belén, por viajar y ayudarme en los muestreos de Córdoba, por su escucha, su amistad y su contagiosa alegría. A Julia, por el trabajo hecho en equipo, por las risas y las charlas compartidas durante estos años.

A todos los compañeros del Laboratorio de Sistemática, por el compartir de todos los días. Un especial agradecimiento a Augusto Siri y Mariano Donato, por las incontables veces que me prestaron el microscopio.

A Ariel Paracampo, por su tiempo, sus sugerencias y su ayuda en muchos de los análisis.

A Juan Martín Paredes del Puerto por su predisposición para ayudarme a resolver dudas estadísticas.

A todos los compañeros del ILPLA, por generar un ambiente de trabajo agradable y solidario, en especial a los becarios por compartir las mismas alegrías y frustraciones.

A Ezequiel Palumbo, por la pasantía compartida en el sur luego de largas horas al volante.

A Verónica D'Amico, por enseñarme a identificar células sanguíneas.

A la Dirección de Flora y Fauna de la Provincia de Buenos Aires y a la Secretaría de Ambiente y Cambio Climático de la Provincia de Córdoba, por los permisos para realizar el trabajo de campo en las respectivas provincias.

A Fabián Sarasola, por facilitarme el anticoagulante para las muestras sanguíneas.

A los grandes amigos que esta carrera me ha brindado, que hicieron que el camino sea más fácil y disfrutable.

A mi amiga Julia por el aguante y la amistad desde hace años.

A toda mi familia, por ser sostén incondicional, especialmente a mis padres para quienes mi educación siempre fue prioridad, por estar siempre conmigo, acompañando y apoyando mis decisiones.

Un gran GRACIAS a mi compañero Andrés, por su amor, su apoyo y su paciencia de cada día, por siempre estar dispuesto y sin condiciones a ayudarme en muchas de las tareas que implicaron realizar esta tesis.

Por último, a mi hijo Camilo, quien llegó a mi vida cuando ya me encontraba embarcada en este proyecto y me enseñó, y enseña cada día, lo verdaderamente importante, por su amor y su inmensa ternura.

Índice

Resumen.....	9
Abstract	11
Capítulo 1. Introducción general.....	13
1.1. Las tortugas dulceacuícolas.....	13
1.2. La enfermedad ulcerativa del caparazón	17
1.3. Los reptiles como bioindicadores.....	19
1.4. Justificación	21
1.5. Objetivos	22
1.6. Área de estudio	23
1.6.1. Caracterización general de los cursos de agua	26
1.6.2. Descripción de las cuencas de estudio y distribución de las especies de tortugas.....	27
1.6.2.1. Arroyos tributarios del Rio de la Plata	27
1.6.2.2. Cuenca de pendiente atlántica	39
1.6.2.3. Arroyos serranos	41
1.6.3. Sitios de muestreo.....	46
Capítulo 2. Enfermedad ulcerativa del caparazón y otros parámetros de condición sanitaria de <i>Hydromedusa tectifera</i> y <i>Phrynops hilarii</i> en ambientes con distinto impacto de contaminación	49
2.1. Introducción	49
2.1.1. Ulceraciones cutáneas.....	50
2.1.2. Daños erosivos superficiales y lesiones traumáticas en caparazón.....	52
2.1.3. Epibiontes.....	52
2.1.4. Índice de Condición Corporal	54
2.1.5. Proporción de sexos	54

2.2.	Objetivos e hipótesis	55
2.3.	Materiales y métodos	57
2.3.1.	Trabajo de campo.....	57
2.3.1.1.	Técnicas de muestreo	57
2.3.1.2.	Registro de datos y obtención de muestras.....	60
2.3.1.3.	Parámetros físico químicos	61
2.3.2.	Índices y variables de estado sanitario	62
2.3.2.1.	Índice de Ulceración del Caparazón (IUC).....	62
2.3.2.2.	Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón.....	64
2.3.3.3.	Índice de Condición Corporal (ICC)	66
2.3.3.4.	Epibiontes.....	66
2.3.3.5.	Proporción de sexos	68
2.3.3.	Análisis estadísticos.....	68
2.4.	Resultados	70
2.4.1.	Resultados para ambas especies por curso de agua.....	70
2.4.1.1.	A° Carnaval, A° Martín y desembocadura común (Canal Villa Elisa).....	70
2.4.1.2.	A° Rodríguez	80
2.4.1.3.	A° El Gato.....	86
2.4.1.4.	A° Tubichamini	92
2.4.1.5.	Sector B1- A° Buñirigo	98
2.4.1.6.	Sector B2- A° Buñirigo	105
2.4.1.7.	A° Sauce Grande.....	111
2.4.1.8.	A° Tanti.....	114
2.4.1.9.	A° Toro Muerto	118
2.4.2.	Comparación por especie entre arroyos.....	121
2.4.2.1.	<i>Hydromedusa tectifera</i>	121

2.4.2.2. <i>Phrynops hilarii</i>	133
2.4.3. Comparación entre especies.....	137
2.4.4. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS).....	140
2.5. Discusión	143
2.5.1. Ulceraciones en el caparazón.....	143
2.5.2. Lesiones en el caparazón.....	147
2.5.3. Índice de Condición Corporal (ICC)	149
2.5.4. Epibiontes.....	150
2.5.5. Proporción de sexos.....	154
Capítulo 3. Parámetros hematológicos en <i>Hydromedusa tectifera</i> y <i>Phrynops hilarii</i>	159
3.1. Introducción	159
3.2. Objetivos e hipótesis	162
3.3. Materiales y métodos	163
3.3.1. Toma de muestra	163
3.3.2. Conteo directo de células sanguíneas.....	164
3.3.3. Perfil leucocitario	165
3.3.4. Análisis estadístico	166
3.4. Resultados.....	167
3.4.1. Comparaciones por especie entre arroyos	169
3.4.1.1. <i>Hydromedusa tectifera</i>	169
3.4.1.2. <i>Phrynops hilarii</i>	175
3.4.2. Comparación entre especies.....	178
3.4.3. Valores hematológicos de referencia.....	179
3.5. Discusión	180
Capítulo 4. El rol del comportamiento de asoleamiento en la condición sanitaria de las tortugas: el caso de <i>Hydromedusa tectifera</i>	188

4.1. Introducción	188
4.2. Objetivos e hipótesis	191
4.3. Materiales y métodos	192
4.3.1. Área de estudio	192
4.3.2. Muestreos	192
4.3.3. Toma de datos.....	194
4.3.4. Análisis estadísticos.....	195
4.4. Resultados	196
4.5. Discusión	205
Conclusiones generales.....	214
Índice de Tablas.....	219
Índice de Figuras	225
Literatura citada	230

Resumen

Los ecosistemas acuáticos continentales albergan gran parte de la biodiversidad del planeta y se encuentran entre los ambientes más amenazados a nivel mundial debido a la contaminación de sus aguas y a la modificación de sus características naturales.

Las tortugas dulceacuáticas, con alrededor de 250 especies conocidas, son uno de los grupos taxonómicos presentes en la mayoría de los ecosistemas acuáticos continentales del mundo. Muchas de ellas se encuentran en estado de vulnerabilidad o amenaza, principalmente a causa de la destrucción de sus hábitats.

El presente trabajo de tesis abordó el estudio del estado sanitario de dos especies de tortuga de agua dulce de amplia distribución en Argentina, *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii*, que habitan cursos de agua con distinto grado de contaminación antrópica. Se propuso evaluar si existen diferencias en parámetros sanitarios de interés entre poblaciones de la misma especie y entre las dos especies, y si alguna o ambas podrían ser empleadas como bioindicadores de la calidad del agua de los ambientes que habitan. Además, se buscó conocer si el distinto tipo de asoleamiento que practica cada especie podría ser la clave para explicar diferencias en su condición sanitaria.

El estudio se llevó a cabo en una serie de arroyos pampásicos tributarios del Río de La Plata y un curso de agua de pendiente atlántica de la provincia de Buenos Aires y dos arroyos serranos de la provincia de Córdoba. Se realizaron comparaciones entre las tortugas de la misma especie provenientes de los distintos cursos de agua, así como entre especies, empleando las siguientes variables: (1) prevalencia y grado de úlceras (enfermedad ulcerativa del caparazón) y otros daños no ulcerosos en el caparazón, (2) índice de condición corporal, (3) prevalencia, cobertura y composición de ensamblajes de epibiontes (vegetal y animal), (4) proporción de sexos, y (5) recuentos totales de eritrocitos y leucocitos, perfil leucocitario e índice de stress H/L.

Las diferencias más contrastantes se obtuvieron en la prevalencia y el grado de ulceración en el caparazón de las poblaciones de *H. tectifera* provenientes de los distintos arroyos analizados, que fueron superiores en los cursos de agua de peor calidad, y también en la

cobertura de la fracción animal de epibiontes, particularmente de temnocéfalos, que fue superior en los arroyos de mejor calidad y nula o muy baja en las tortugas procedentes de arroyos con peor condición. Estas variables también fueron marcadamente diferentes entre las dos especies estudiadas, ya que no se detectaron úlceras en ningún ejemplar de *P. hilarii*, así como la abundancia de temnocéfalos que fue siempre nula o muy baja en esta especie. Los resultados obtenidos indican, por un lado, que dentro de un mismo contexto ambiental las tortugas de *P. hilarii* experimentan una mejor condición sanitaria que las de *H. tectifera*, en parte probablemente relacionado con la conducta de asoleamiento fuera del agua que practica la primera, lo que le permite mantener en buenas condiciones la piel y controlar el crecimiento de colonias de bacterias relacionadas con el desarrollo de la enfermedad ulcerativa. Por otro lado, si bien se pudo observar que ambas especies estudiadas son versátiles y parecen estar adaptadas a vivir tanto en ambientes disturbados como poco impactados, en *H. tectifera* existe una evidente relación entre la calidad del agua del ambiente que habita y la presencia de daños ulcerosos en su caparazón. En esta especie opera una sinergia entre la mala calidad del agua y los aspectos conductuales de la especie (caminadora de fondo, asoleamiento subacuático) que resulta favorable para el desarrollo de úlceras, las que muchas veces derivan en cuadros severos. Por ello, de las dos especies estudiadas, *H. tectifera* y las colonias de temnocéfalos que viven sobre ella son útiles para detectar cambios en la calidad del agua en arroyos de llanura de la provincia de Buenos Aires.

Abstract

Inland aquatic ecosystems house a large part of the planet's biodiversity and are among the most threatened environments worldwide due to water pollution and the modification of their natural characteristics.

Freshwater turtles, with about 250 known species, are one of the taxonomic groups present in most of the world's inland aquatic ecosystems. Many of them are in a state of vulnerability or threat, mainly due to the destruction of their habitats.

The present thesis work studies the health status of two species of freshwater turtles widely distributed in Argentina, *Hydromedusa tectifera* and *Phrynops hilarii*, which inhabit watercourses with different degrees of anthropogenic contamination. I proposed to evaluate differences in selected health parameters between populations of the same species and between the two species, and whether either any or both could be used as bioindicators of environmental water quality. In addition, I evaluated if the mode of basking practiced by each species could be the key to explain differences in their sanitary condition.

The study was carried in several pampasic streams that flow into the Rio de La Plata and in an Atlantic slope watercourse (Buenos Aires province) and two mountain streams from Cordoba province. Comparisons were made for each species among different streams, as well as between both species, considering the following variables: (1) prevalence and degree of ulcers (ulcerative shell disease) and other non-ulcerative shell damage, (2) body condition index, (3) prevalence, coverage and composition of epibiont assemblages (plant and animal), (4) sex ratio, and (5) total erythrocyte and leukocyte counts, leukocyte profile and H/L stress index.

The most contrasting differences were obtained in the prevalence and degree of ulceration on the carapace of *H. tectifera* populations from the different streams analyzed, which were higher in streams of poorer quality, and also in the coverage of the animal fraction of epibionts, particularly temnocephali, which was higher in streams of better quality and null or very low in turtles from streams of poorer condition. These variables were also markedly different between the two species studied, since no ulcers were detected in any specimen

of *P. hilarii*, as well as the abundance of temnocephali, which was always null or very low in this species.

The results indicate that within the same environmental context *P. hilarii* experiences a better sanitary condition than *H. tectifera*. This fact probably relates to the aerial basking practiced by *P. hilarii*, which allows a good skin condition by controlling the growth of bacterial colonies related to the development of ulcerative disease. Although both species are versatile and seem to be adapted to live in both disturbed and lightly impacted environments, the synergy between poor water quality and behaviour (bottom walker, underwater sunning) seems to affect negatively only *H. tectifera*. Therefore, of the two species studied, *H. tectifera* and the colonies of temnocephali living on it are useful for detect early changes in water quality in plain streams of Buenos Aires province.

Capítulo 1. Introducción general

Los ecosistemas acuáticos continentales soportan una proporción sumamente grande de la biodiversidad mundial, y, a pesar de ocupar solamente alrededor del 0,8% de la superficie terrestre, albergan cerca de 100.000 especies, aproximadamente el 6% de todas las especies conocidas (Dudgeon et al. 2006, Geist 2011). Sin embargo, se encuentran entre los ecosistemas más degradados del planeta y su biota es una de las más amenazadas.

Estos ambientes están sufriendo en la actualidad importantes presiones provenientes de la actividad humana que se traducen en consecuencias negativas en la calidad del agua y la conservación de la biodiversidad. El creciente desarrollo urbano y agrícola, la modificación de las características naturales de los cursos de agua (por canalizaciones, dragados, sobreexplotación), la deforestación y el vertido de aguas residuales urbanas e industriales representan las principales causas de la destrucción de los ecosistemas, con la consecuente contaminación de sus aguas y la alteración del hábitat para muchas especies de la flora y fauna acuáticas (Malmqvist y Rundle 2002). Por ello, el estudio y monitoreo de las poblaciones animales que habitan ambientes dulceacuícolas resulta de suma importancia para conocer su estado general y generar información que pueda contribuir con las decisiones para el manejo y conservación de las mismas y del hábitat que ocupan.

Uno de los grupos animales de particular interés lo constituyen las tortugas de agua dulce, presentes en los ambientes acuáticos de casi todo el planeta. Allí colaboran en mejorar la calidad del agua, influyen en la diversidad de las comunidades acuáticas y participan en la regulación de los procesos ecosistémicos, por lo que resultan organismos clave en el soporte y control del ecosistema (Lindsay et al. 2013, Sterrett et al. 2015, Santori et al. 2020).

1.1. Las tortugas dulceacuícolas

Este grupo cuenta con alrededor de 250 especies descritas, muchas de las cuales (alrededor del 60 %) están categorizadas como amenazadas o vulnerables según la Lista Roja de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza), y muchas otras han sido poco estudiadas, por lo que no se conoce el estado actual de sus poblaciones o

requerimientos específicos (Bour 2008, IUCN 2016, Lovich et al. 2018). Las tortugas en general son sensibles a la modificación y deterioro del hábitat, representando esto la principal causa de desaparición de estas especies, seguido de la colecta para fines medicinales, alimento y mascotismo (Standford et al. 2020).

La fauna de tortugas de Sudamérica está dominada por la familia Chelidae, un clado gondwánico de tortugas exclusivamente acuáticas, cuya distribución sudamericana se extiende desde el norte de Venezuela hasta el centro de Argentina (Rhodin et al. 2021). En toda esta región habitan 23 especies, muchas de ellas como endemismo de cuencas hidrográficas (Souza 2005). Estas tortugas presentan, en la mayoría de sus especies, un modo de vida principalmente acuático, abandonando este medio solo para oviponer, asolearse o desplazarse en condición de sequía hacia otros cuerpos de agua, razón por la cual su ámbito del hogar (*home range*) suele ser acotado (Souza et al. 2008, Famelli et al. 2016, Müller et al. 2019).

En Argentina la familia Chelidae incluye 7 especies (Prado et al. 2012), dos de ellas con amplia distribución en varias provincias del país: la Tortuga cuello de serpiente, *Hydromedusa tectifera* Cope 1869 (Fig. 1) y la Tortuga de laguna o Campanita, *Phrynops hilarii* Duméril y Bibron 1835 (Fig. 2). Ambas especies se encuentran catalogadas en la Lista Roja de la IUCN como de "Preocupación Menor" (*Least Concern*: Rhodin et al. 2021).

La primera de ellas cuenta con registros en el centro y sur de Brasil, sudeste de Paraguay, Uruguay en casi toda su extensión y, en siete provincias del centro y norte de Argentina: Misiones, Entre Ríos, Buenos Aires, Córdoba, San Luis, Santiago del Estero y Salta (Alcalde et al. 2021). Habita ambientes lénticos como zanjas, lagunas pampásicas, bañados de desborde fluvial, embalses y esteros; y lóticos como ríos y arroyos de bajo orden (Vaz-Ferreira y Sierra 1960, Freiberg 1981, Gallardo 1987, Gudynas 1989, Lema y Ferreira 1990, Ribas y Monteiro-Filho 2002, Estrades et al. 2008). Dado que esta especie es principalmente caminadora de fondo, por lo general está asociada a cursos de agua de bajo caudal y poca profundidad. Su dieta es carnívora, basada en diversos invertebrados acuáticos y terrestres, pequeños vertebrados acuáticos e incluso carroña (Bonino et al. 2009, Alcalde et al. 2010, Palumbo et al. 2021, Sánchez et al. 2021, Chaviel et al. 2022). Poco se sabe acerca de su

asoleamiento que, según observaciones realizadas en cautividad por Astort (1983), sería de tipo sub-acuático. La ecología reproductiva se estudió en poblaciones del sur de Brasil y en ejemplares en cautividad: la especie nidifica en la zona riparia muy cerca de la orilla y la puesta oscila entre 5 y 15 huevos que tardan en eclosionar entre 70 y 200 días dependiendo las condiciones ambientales (Wolff 2002, Bager y Rosado 2010, Molina et al. 2016).

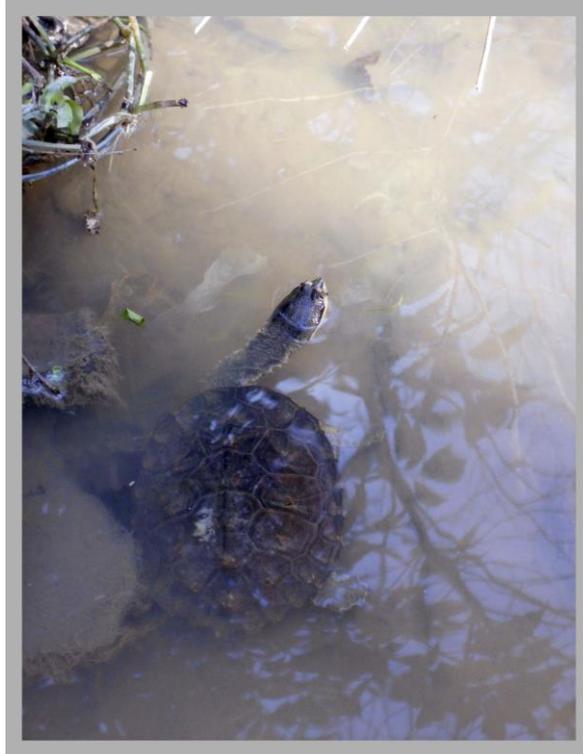


Figura 1. Tortuga cuello de serpiente, *Hydromedusa tectifera*.

La otra especie, *Phrynops hilarii*, presenta distribución más amplia respecto de *H. tectifera* en Argentina, aunque algo más restringida en Brasil y Uruguay donde se la conoce solo para la región sur del primero y este del segundo. En Paraguay se distribuye asociada a la cuenca del río homónimo. En Argentina su distribución está registrada para la Mesopotamia (excepto Misiones), Formosa, Chaco, Salta, Tucumán, Santiago del Estero, Córdoba, Santa Fe, Buenos Aires, Mendoza y San Juan (Sánchez et al. 2019). Los ambientes que ocupan ambas especies son similares, con la salvedad que *P. hilarii*, al ser una tortuga de mayor tamaño y hábito nadador, suele preferir ambientes con zonas de aguas abiertas de mayor caudal y

profundidad. El conocimiento sobre la ecología de *P. hilarii* se basa principalmente de estudios realizados en poblaciones del sur de Brasil y algunos estudios puntuales en la Mesopotamia Argentina y en cuencas tributarias del Río de la Plata: tiene una dieta carnívora generalista, con preferencia sobre pequeños crustáceos e insectos acuáticos (Alcalde et al. 2010, Assman et al. 2013); sale por completo del agua para practicar asoleamiento atmosférico, muchas veces de manera gregaria (Richard 1999, Clavijo-Baquet y Magnone 2017, Semeñiuk y Alcalde 2017); sus nidadas, de entre 11 y 15 huevos (Bujes 1998, Prieto et al. 2019) y con un período de incubación que puede durar entre 150 y 270 días (Bujes y Verrastro 2009), se depositan en áreas de nidificación influenciadas por las características del ambiente ribereño y la consecuente posibilidad de las hembras de acceder a sitios propicios, siendo por ello muy variable la distancia promedio al cauce, señalado en alrededor de 130 m para ambientes ribereños del Río Paraná en Entre Ríos y Santa Fe (López et al. 2013) y 50 m en pequeñas lagunas del sur de Brasil (Tortato 2007, Bager y Rosado 2010).



Figura 2. Tortuga de laguna, *Phrynops hilarii*.

Desde las últimas décadas, pero más acentuado en tiempos recientes, se viene registrando la existencia de poblaciones de tortugas dulceacuícolas en ambientes disturbados de todo el planeta: aguas contaminadas, cauces modificados, zona riparia urbanizada, entre otros

(Vandewalle y Christiansen 1996, Luiselli et al. 2004, Conner et al. 2005, Plummer et al. 2008, Bowne et al. 2018, Hassani et al. 2019). A pesar del escenario desfavorable, esas poblaciones persisten y aparentemente logran adaptarse de algún modo a tales condiciones ambientales, aunque el estado en que se encuentran pueda ser variable. La presencia permanente de agua y la alta disponibilidad de alimento relacionada con desechos humanos parecen favorecer la presencia y el desarrollo de poblaciones de tortugas en ambientes urbanizados. Diversos estudios (dietarios, demográficos, hematológicos) realizados en poblaciones de chélidos que habitan ríos y arroyos en áreas urbanas e industriales demuestran la versatilidad de estas especies para subsistir en estos cuerpos de agua (Alcalde et al. 2010, Castaño et al. 2020, Ferronato et al. 2009, Martins et al. 2010, Semeñiuk et al. 2019, Souza y Abe 2000, Souza et al. 2008, Zago et al. 2010a).

1.2. La enfermedad ulcerativa del caparazón

La enfermedad ulcerativa del caparazón es una patología sumamente infecciosa que afecta a tortugas de agua dulce y que ha sido reportada mayormente para especies del hemisferio norte (Kaplan 1957, Lovich 1996, Garner 1997, Bishop et al 2010, Feldman y Feldman 2011; Fig. 3). Las ulceraciones pueden ser superficiales, afectando solo las placas córneas del caparazón, y usualmente no se detectan cambios comportamentales asociados. En estos casos, en general, la patología se autolimita y puede persistir por años sin diseminarse al resto del organismo (Granados et al. 2013). Sin embargo, en algunos casos la enfermedad puede cursar con ulceraciones infecciosas profundas que involucran el epitelio y tejido óseo subyacente a las placas corneas del caparazón, pudiendo afectar también miembros y otras partes blandas del cuerpo. A este estado agravado de la enfermedad se lo denomina Enfermedad Ulcerativa Cutánea Septicémica (SCUD, por sus siglas en inglés). Distintas bacterias han sido identificadas como agentes etiológicos de la SCUD: *Citrobacter freundii*, *Beneckea chitinovora*, *Serratia* sp. (Kaplan 1957, Wallach 1975, Granados et al. 2013). Una vez que la infección llega al torrente sanguíneo causa necrosis en órganos internos, particularmente en hígado, bazo, riñones y corazón (Rodríguez et al. 2018). El cuadro clínico final se

caracteriza por ulceraciones cutáneas, parálisis de miembros, pérdida de dedos o garras, hemorragias, letargia, anorexia y, por lo general, culmina con la muerte del individuo.

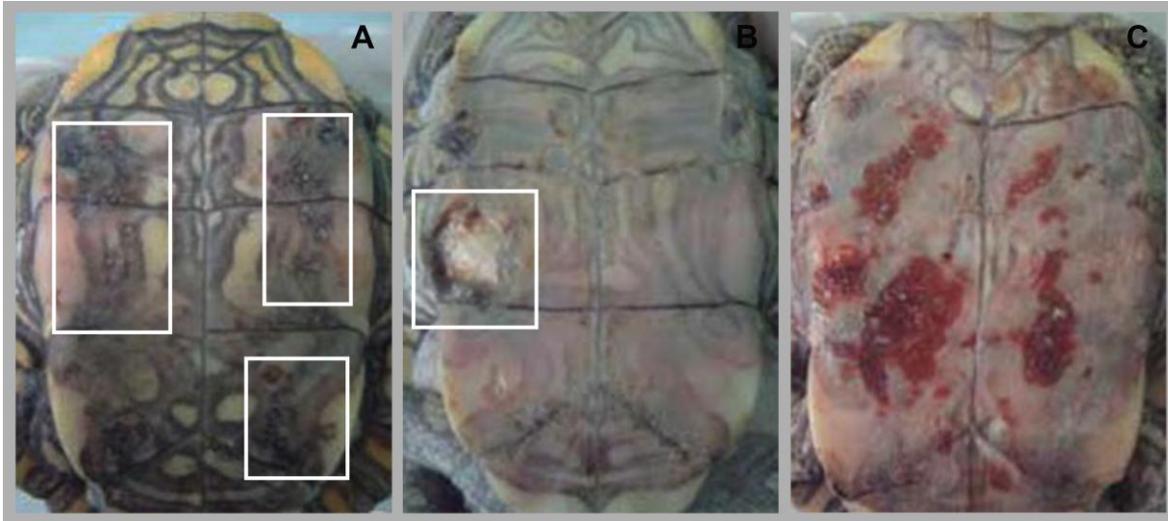


Figura 3. Lesiones cutáneas ulcerativas en el plastrón de *Trachemys callirostris*: A) múltiples úlceras pequeñas crateriformes; B) úlcera crateriforme con exposición del hueso; C) enrojecimiento de placas. Imagen modificada de Granados et al. 2013.

Varios autores coinciden en la relevancia que pueden tener cualquier daño en la capa córnea del caparazón como sitio de entrada del agente patológico para dar inicio al proceso ulcerativo (Kaplan 1957, Wallach 1975, Feldman y Feldman 2011). En tal sentido, la contaminación de ecosistemas acuáticos provocada principalmente por aguas residuales no tratadas parece tener un rol fundamental en la patogénesis de enfermedades en el caparazón y piel de tortugas (Aleksić-Kovačević et al. 2014). Lesiones menores en individuos que habitan ambientes contaminados pueden devenir fácilmente en infecciones del caparazón (Boyer 1991). Si bien resulta complejo hacer un recorte de cuál o cuáles factores determinan el origen de la enfermedad ulcerativa en un ambiente no controlado, la presencia de contaminantes, ambientes eutrofizados y el deterioro ambiental general representan el escenario propicio para la prevalencia de la patología. Además, es probable que varios estresores individuales como una baja calidad nutricional, inmunodepresión y otras enfermedades concomitantes, colaboren con un mayor desarrollo de la enfermedad.

Independientemente del agente causante, la capacidad de las tortugas de recuperarse de las lesiones ulcerosas podría tener relación con la práctica de asoleamiento aéreo (Feldman y Feldman 2011). La ausencia de comportamiento de asoleo fuera del agua (por conducta, baja disponibilidad de sitios, competencia, riesgo de predación, etc.) conlleva a que el caparazón no se seque diariamente y no se eliminen las colonias bacterianas que puedan proliferar en las áreas dañadas. Por lo tanto, el secado del cuerpo realizado en tortugas que practican asoleamiento aéreo resulta de suma importancia para, entre otras ventajas, minimizar el desarrollo de infecciones epizoóticas y epifíticas y así mantener la epidermis en buen estado sanitario (Boyer 1965).

Debido a la importancia de la calidad del agua para el desarrollo esta patología, y por tratarse de un grupo animal con ciertas características particulares, la presencia de esta patología podría resultar de interés como indicador de la calidad del ambiente, tal como se describe en la sección siguiente.

1.3. Los reptiles como bioindicadores

Se define a un bioindicador como un organismo, parte de un organismo o una comunidad de organismos que aporta información de la calidad del ambiente o de una parte de él (Markert et al. 2003). Las especies indicadoras son organismos que se utilizan como indicadores cualitativos de fenómenos de estrés natural o antropogénico, incluyendo aquellos causados por la liberación al ambiente de compuestos químicos o sus metabolitos, aumentos en la radiación e interferencias en el paisaje (Fränzle 2003). Dichos indicadores cualitativos de los sistemas bióticos están determinados por propiedades ecofisiológicas, dinámicas poblacionales, y reacciones al estrés en relación a cambios físicos y químicos en un sitio dado.

Un indicador ideal debe cumplir con las siguientes características: fácil determinación taxonómica, amplia distribución, escasa movilidad (indicación local), requerimientos ecológicos bien conocidos, abundancia numérica, alta sensibilidad a estresores ambientales, conveniencia para su cuantificación y estandarización (Markert et al. 2003).

Los ecosistemas acuáticos mantienen una gran diversidad de organismos, incluso mayor a los terrestres, por lo que alteraciones como la contaminación inducen a cambios en la

estructura de las comunidades, la función biológica de los sistemas acuáticos y en los propios organismos, afectando su ciclo de vida, crecimiento y condición reproductiva (Bartram y Ballance 1996). Por tal motivo, algunos organismos pueden proporcionar información de cambios físicos y químicos en el agua, ya que a lo largo del tiempo revelan modificaciones en la composición de la comunidad (Laws 1981).

En general, los estudios de bioindicación de calidad de agua en ríos y arroyos emplean comúnmente especies del plancton, macrófitas, macroinvertebrados y peces, siendo menos frecuente el uso de organismos de mayor orden taxonómico como pueden ser los reptiles (Burger 2006, Gerhardt 2002, Li Li y Liu 2010). Los reptiles son sensibles a la contaminación ambiental y, por sus características ecológicas y biológicas, suelen estar expuestos a los contaminantes presentes en el hábitat en todas las etapas de su ciclo vital: los embriones entran en contacto a través de la cáscara de los huevos o por transferencia directa de las hembras, y los juveniles y adultos por medio del alimento, el agua y los sedimentos del ecosistema en el que viven (Poletta et al. 2013). En los últimos años se ha comenzado a implementar el uso de reptiles como bioindicadores debido a que son relativamente fáciles de muestrear, su sensibilidad a los disturbios antrópicos, su *home range* restringido y, fundamentalmente, su ciclo de vida largo capaz de adaptarse a distintas condiciones del hábitat (Urbina Cardona et al. 2015). Además, al ubicarse en una posición alta de la escala trófica proveen una mirada global del estado del ecosistema.

Un ejemplo de bioindicación en tortugas es la fibropapilomatosis, una enfermedad que afecta a varias especies marinas que habitan zonas costeras tropicales. Si bien el agente primario de infección sería de tipo viral (Aguirre y Lutz 2004), se sabe que la prevalencia de esta patología está asociada a ambientes afectados por actividades humanas, incluyendo agricultura y desarrollo urbano e industrial (Herbst y Klein 1995, Adnyana et al. 1997, Aguirre y Lutz 2004, dos Santos et al. 2010). Los contaminantes ambientales tienen efectos en la fibropapilomatosis dado que actúan como cocarcinógenos e inmunosupresores, lo que genera un escenario favorable para el desarrollo y persistencia de la enfermedad en las tortugas. La manifestación de la fibropapilomatosis representa un buen indicador de la calidad ambiental de una zona en particular, dado que las tortugas marinas, si bien suelen

desplazarse interoceánicamente, son fieles a sus hábitats costeros y pelágicos de alimentación y a sus playas de anidación (Aguirre y Lutz 2004, Patino-Martínez et al. 2014).

En lo que respecta a tortugas de agua dulce, la literatura que trata específicamente sobre los efectos que produce la contaminación del ambiente en los individuos se basa mayoritariamente en especies del hemisferio norte y de la región australiana (Bishop et al. 1991, Bergeron et al. 1994, Nagle et al. 2001, de Solla et al. 2007, Hernández-Guzmán et al. 2015, Ming-ch'eng Adams et al. 2016, Beau et al. 2019). Algunos de ellos están relacionados con anomalías en los huevos y malformaciones en las crías, determinación del sexo de los embriones, cuestiones de crecimiento relativas al desarrollo óseo y anomalías intracelulares (lesiones en el ADN y cromosomas); todos ellos tienen en última instancia consecuencias a nivel poblacional en la supervivencia y la reproducción.

1.4. Justificación

El presente estudio surge a partir de observaciones previas realizadas en *Hydromedusa tectifera* entre los años 2005 y 2011 en varios arroyos de los partidos de La Plata y Magdalena (Provincia de Buenos Aires, Argentina). En esas ocasiones, verificamos un alto número de individuos con ulceraciones severas en el caparazón, en particular en ejemplares de la especie provenientes de un sector del arroyo Buñirigo (Magdalena) impactado por actividad industrial (Fig. 4). A su vez, esta situación no fue observada (o la prevalencia y severidad de las ulceraciones eran muy bajas) en las tortugas de la misma especie que habitaban otros arroyos con mejor calidad de agua. Otro hecho relevante que notamos en la población del A° Buñirigo fue que, si bien había individuos afectados de ambos sexos, la mayor parte de ellos eran hembras. Por otro lado, en esos mismos arroyos también capturamos tortugas de la especie *P. hilarii*, en las cuales nunca detectamos presencia de úlceras en su caparazón. Por lo tanto, a partir de esas observaciones preliminares surgió el interrogante acerca de si la prevalencia de la enfermedad ulcerativa del caparazón es realmente diferente entre las poblaciones que habitan cursos de agua con distintos tipos de disturbios y entre ambas especies, y si afecta más a las hembras que a los machos.

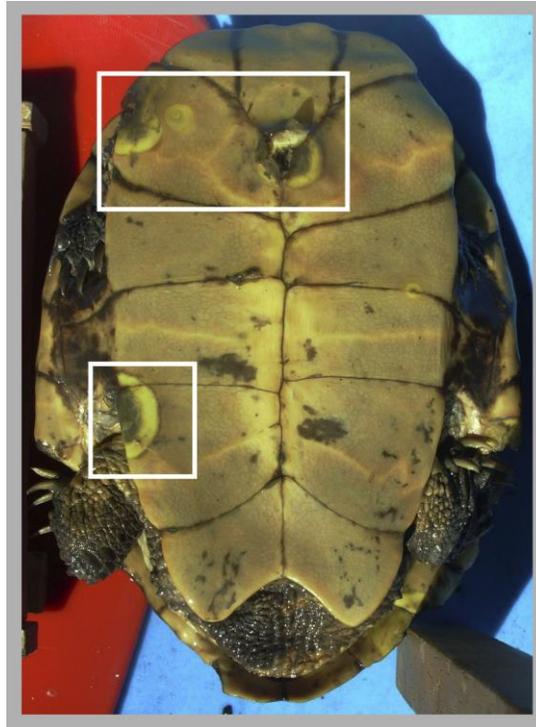


Figura 4. Vista ventral de hembra de *H. tectifera* con ulceraciones crateriformes en el plastrón (recuadros), proveniente del A° Buñirigo (Provincia de Buenos Aires).

1.5. Objetivos

Objetivo general:

Evaluar el estado sanitario de tortugas de las especies *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii* que habitan arroyos con distintos tipos de contaminación urbana e industrial y determinar si existen diferencias significativas entre ellas en base a distintas variables sanitarias.

Objetivos específicos:

- ✓ Determinar si los siguientes parámetros varían significativamente entre las poblaciones de *H. tectifera* y *P. hilarii* que habitan arroyos con distinto impacto de contaminación: 1) proporción de individuos con ulceraciones en el caparazón (prevalencia) y grado de afectación de las mismas; 2) índice de condición corporal; 3) parámetros sanguíneos básicos: cantidad de glóbulos rojos, cantidad de glóbulos blancos, perfil leucocitario, índice heterófilos/linfocitos; 4) proporción de sexos; 5)

prevalencia, abundancia, porcentaje de cobertura y composición de ensambles de zooplankton y prevalencia y porcentaje de cobertura de algas en el caparazón.

- ✓ Analizar si existen diferencias de esos parámetros entre ambas especies.
- ✓ Evaluar si la enfermedad ulcerativa del caparazón afecta diferencialmente a las hembras de cada especie.
- ✓ Determinar si alguna de las especies estudiadas podría utilizarse como bioindicador de la calidad del agua de arroyos pampeanos y serranos de las provincias de Buenos Aires y Córdoba.
- ✓ Describir el tipo de asoleamiento que practica *Hydromedusa tectifera*, de la cual hasta el momento no se cuenta con datos al respecto, para explicar su posible relación con la prevalencia de la enfermedad ulcerativa del caparazón en esta especie.

1.6. Área de estudio

El presente trabajo se realizó en ocho ambientes lóticos con características limnológicas, calidad de agua y usos de suelo variadas, situados en las provincias de Buenos Aires y Córdoba, Argentina. En Buenos Aires el área de estudio abarcó un grupo de arroyos de llanura que forma parte del sistema hídrico tributario del Río de La Plata (Frenguelli 1956), que de norte a sur son: A° Carnaval, A° Martín, A° Rodríguez, A° El Gato (partidos de La Plata y Ensenada), A° Tubichamini y dos sectores del A° Buñirigo (partido de Magdalena; Figura 5A); y un arroyo serrano del grupo de pendiente atlántica (Frenguelli 1956): A° Sauce Grande (partido de Tornquist; Fig. 5B).

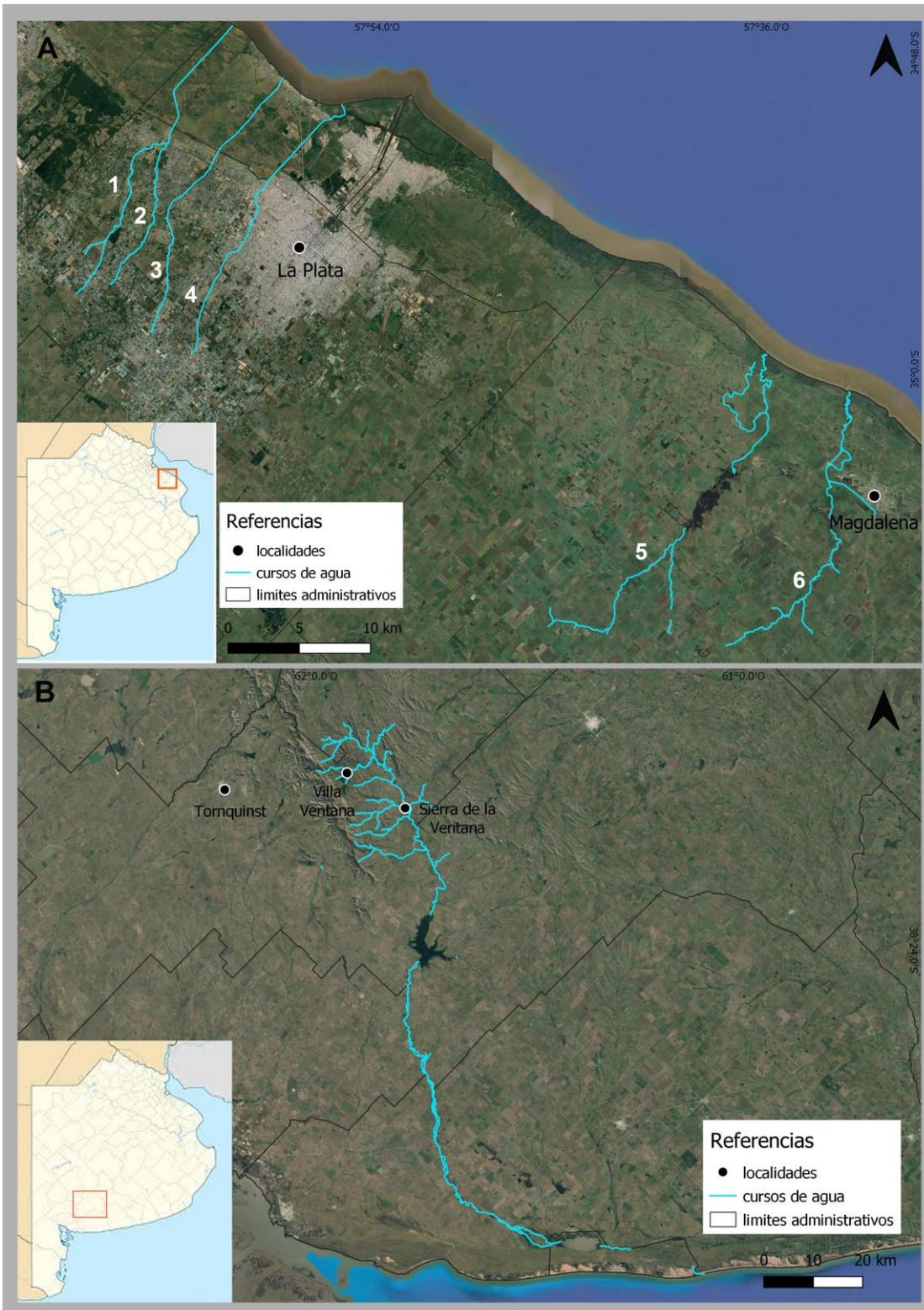


Figura 5. Ubicación geográfica del área de estudio en la provincia de Buenos Aires: A) arroyos tributarios del Rio de la Plata. 1= A° Carnaval; 2= A° Martín; 3= A° Rodríguez; 4= A° El Gato; 5= A° Tumbichamini; 6= A° Buñirigo; B) cuenca de pendiente atlántica.

En Córdoba el área de estudio comprendió dos arroyos serranos ubicados al centro oeste de la provincia, ambos pertenecientes al sistema endorreico Laguna de Mar Chiquita (Subsecretaría de Recursos Hídricos 2004): A° Tanti y A° Toro Muerto (departamento de Punilla; Fig. 6).

En los dos arroyos serranos cordobeses y en el sector estudiado del A° Sauce Grande (cuenca alta) solo está registrada una especie de tortuga de agua dulce, *Hydromedusa tectifera* (Cabrera et al. 1986, Lescano et al. 2008, Di Pietro et al. 2012). En los restantes arroyos estudiados en esta tesis pueden hallarse (con dominancia variable dentro de un mismo curso) hasta tres especies: el par *P. hilarii* - *H. tectifera* (en todos los arroyos de llanura estudiados) y *Trachemys dorbigni* (de los arroyos del área de estudio hasta ahora solo conocida para la desembocadura del A° Buñirigo, aunque con muy baja abundancia (Alcalde et al. 2012, Semeñiuk y Alcalde 2017), y posiblemente en la desembocadura común de los A° Carnaval y Martín (canal Villa Elisa; Saibene et al. 2012).

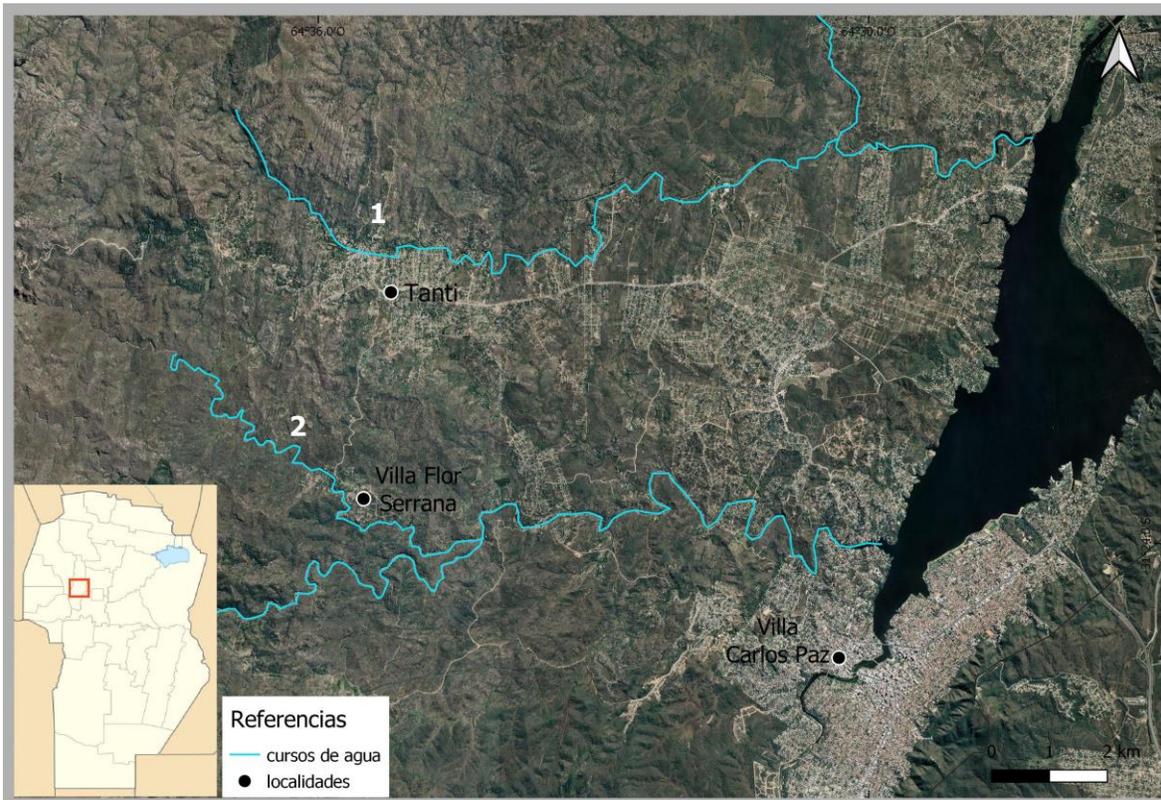


Figura 6. Ubicación geográfica del área de estudio en la provincia de Córdoba. 1= A° Tanti; 2= A° Toro Muerto.

1.6.1. Caracterización general de los cursos de agua

Ríos y arroyos tributarios del Río de la Plata

Los arroyos y ríos de llanura bonaerenses se caracterizan por presentar pendiente escasa, fondo de tosca, limo o arcilla, elevada turbidez y abundantes detritos orgánicos. Su caudal se mantiene principalmente por el aporte de las lluvias y el agua de escorrentía, siendo importante en algunos casos la contribución del agua subterránea. La mayoría de los cursos de agua del noreste de Buenos Aires son por naturaleza levemente alcalinos debido al sustrato calcáreo y en consecuencia suelen tener elevada conductividad, muchas veces asociada al agua aportada por el nivel freático y otras veces a causa de contaminación industrial (Rodrigues Capítulo et al. 2004). Esa conductividad se ve reducida hacia la desembocadura en las cuencas que desaguan en la porción norte del Río de la Plata, debido al ingreso de aguas menos mineralizadas. Lo opuesto ocurre en los cursos de agua que desembocan en la porción sur de dicho río, donde el aporte salino es más importante.

Ríos y arroyos de pendiente atlántica

Los ríos y arroyos que desaguan directamente en el océano Atlántico están comprendidos en el complejo conformado por los cordones serranos de Tandilia y Ventania y la “llanura interserrana bonaerense” que se forma entre ambos, conocido como el Positivo Bonaerense (Yrigoyen 1975). En los tramos finales de su recorrido, previo a su desembocadura, estos cursos corren frecuentemente paralelos a la costa marina, debido a la presencia de dunas que impiden su desagüe directo, regiones donde se forman importantes ecosistemas de lagunas mixohalinas.

Este tipo de cuencas se caracteriza por su fuerte pendiente en las nacientes, sus aguas claras y fondos mayormente pedregosos o de piedra y arena, y su fuerte corriente a menudo disminuida en zonas de pozones (Rodrigues Capítulo et al. 2004).

Cursos de agua serranos

Los cursos de agua serranos incluyen a una serie de cuencas endorreicas en el centro de Argentina (al noroeste de la provincia de Córdoba) en las que los cauces se extinguen, en

general, en áreas desérticas o de bañados, o desaguan en ríos de mayor caudal. Los ríos y arroyos poseen características limnológicas "serranas": lecho pedregoso, corriente rápida, baja temperatura, transparencia alta y, en general, con enormes fluctuaciones estacionales de caudal (Menni 2004).

1.6.2. Descripción de las cuencas de estudio y distribución de las especies de tortugas

1.6.2.1. Arroyos tributarios del Río de la Plata

Los cursos de agua tributarios del Río de la Plata donde se realizó el presente estudio comparten entre sí una serie de rasgos naturales y propios de los arroyos de la región, y a la vez se diferencian en los distintos tipos de uso de la cuenca producto de la actividad antrópica. Éstos se originan a partir de pequeños cursos de agua transitorios ubicados al Este de la divisoria de aguas y relieves, en el límite entre Pampa Ondulada y Pampa Deprimida (*sensu* Morello et al. 2012) en coincidencia con la traza de la Ruta Provincial 36. Las nacientes y tramos medios de estos arroyos suelen presentar alternancia de zonas de mayor profundidad (pozones o socavones) con otras más someras debido a la escasa pendiente, las cuales suelen colmatarse de vegetación acuática conformando bañados de diversa magnitud. Esta discontinuidad en el caudal (acrecentada en época de sequía, especialmente en las porciones más someras), bien característica de estos cursos de agua, ha llevado a denominarlos conjuntamente como "Cañadas".

El área de la cabecera, en todos los casos estudiados, permanece en estado rural o semirural, aunque siendo variable el uso del suelo: en la región correspondiente a los arroyos que pertenecen al Gran La Plata (A° Carnaval, A° Martín, A° Rodríguez y A° El Gato) la práctica dominante es la horticultura intensiva (a campo y bajo cubierta) y la floricultura bajo cubierta, en coexistencia con algunos campos destinados a la producción de soja y maíz y ganadería ovina, porcina y bovina a baja escala. En cambio, en los dos arroyos estudiados correspondientes al partido Magdalena (A° Tubichamini y A° Buñirigo) predomina la ganadería vacuna con pasturas naturales e implantadas, principalmente para producción de leche. Esta actividad se realiza no solo en las nacientes sino en todo su recorrido (a excepción de la desembocadura del A° Buñirigo).

A partir de sus tramos medios, ambos grupos de arroyos presentan una clara diferenciación. Los del primer grupo mencionado atraviesan distintas áreas del partido de La Plata, viéndose afectados en mayor o menor medida por los efectos de la urbanización y en algunos casos por la actividad industrial. Si bien estos cursos de agua se encuentran dragados en todo su recorrido desde hace tiempo, las prácticas hidráulicas sobre sus cauces se han incrementado en las últimas décadas y principalmente a partir de sus tramos medios producto del crecimiento urbano, llegando incluso en algunos casos a revestirse con concreto o entubarse. El tramo final de estos arroyos se encuentra canalizado y rectificado artificialmente desde la línea de la traza del ferrocarril Gral. Roca hasta la desembocadura en el Río de La Plata. Esta zona corresponde a lo que era, antes de las obras hidráulicas, el Bañado Maldonado. Este bañado estaba constituido por una red de cursos anárquicos formada por el aporte de agua de los arroyos de la zona que, al no poder vencer la pendiente, se deshacían en un bañado de gran extensión.

Los arroyos del segundo grupo, en cambio, no presentan dragados ni canalizaciones en la mayor parte de su recorrido, a excepción de algunos tramos en la sección final de ambos (previo a su desembocadura en el Río de La Plata) y en el tramo medio final del A° Buñirigo. En estos arroyos aún persiste el área de bañado equivalente al antiguo Bañado Maldonado, aunque modificada por las mencionadas obras hidráulicas, mayormente en el A° Buñirigo donde dicha área se encuentra desprovista de agua.

La vegetación acuática es característica de los ríos y arroyos pampeanos, con una gran variedad de formas que estructuran el ecosistema y conforman los hábitats donde se refugian, alimentan y reproducen numerosas especies de invertebrados y vertebrados (Giorgi et al. 2005). Entre las macrófitas más representativas se encuentran especies flotantes como Lentejas (*Spirodela* sp., *Lemna* sp., *Wolffiella* sp.), Helechos (*Azolla filiculoides*) y Repollitos (*Pistia stratiotes*) de agua; arraigadas flotantes como Redondita de agua (*Hydrocotyle ranunculoides*), Berro (*Nasturtium officinale*), Amapolita de agua (*Hydrocleys nymphoides*), Catay dulce (*Polygonum punctatum*), Lagunilla (*Alternanthera philoxeroides*) y Duraznillo (*Ludwigia bonaerensis*); emergentes como Saeta (*Sagittaria montevidensis*), Junco (*Schoenoplectus californicus*) y Totorá (*Thypha* spp.); y sumergidas como Elodeas y Egerias (*Egeria densa*,

Elodea callitrichoides y *Stuckenia striata*), Cola de zorro (*Ceratophyllum demersum*) y Helichito de agua (*Myriophyllum* sp.), entre otras. Estas distintas plantas acuáticas se combinan y alternan en dominancia de acuerdo a los niveles estacionales de agua y a las características estructurales de cada arroyo a lo largo de su recorrido.

La última sección de todos los arroyos presenta la vegetación ribereña propia de la ribera rioplatense, con un incremento en la abundancia y diversidad de la vegetación riparia, contrastante con la dominancia del pastizal en áreas de nacimiento y tramos medios. En la zona de la desembocadura la vegetación está dominada por gran variedad de especies trepadoras (*Cissus palmata*, *Stigmatophyllum litorale*, *Solanum amygdalifolium*, entre otras) favorecidas por la amplia y abundante diversidad de leñosas nativas y exóticas (para acceder a listados completos de vegetación riparia rioplatense consultar Guerrero et al. (2012 y 2018)). Entre las leñosas nativas se destacan: Acacia café (*Sesbania virgata*), Ceibo (*Erythrina crista-galli*), Curupí (*Sapium haematopesrmum*), Laurel criollo (*Ocotea acutifolia*), Rosa de río (*Hibiscus cisplatinus*), Espinillo (*Vachellia caven*), Incienso (*Schinus longifolius*), Coronillo (*Scutia buxifolia*), Sen de campo (*Senna corymbosa*), Sauce criollo (*Salix humboldtiana*), Sauco (*Sambucus australis*) y Tala (*Celtis tala*). Aunque con variantes, las últimas siete especies son las que suelen verse tierra adentro entre la matriz de pastizal en asociación con los cauces de los arroyos.

Arroyos Carnaval y Martín

Los A° Carnaval y Martín, ubicados entre sí a una distancia aproximada de 2,5 km, tienen un recorrido mayormente paralelo, abarcando juntos una superficie total de 105 km². Cada uno de ellos tiene una extensión aproximada de 14,5 km. Ambos se originan de manera similar, a partir de la confluencia de dos pequeños cauces de carácter transitorio. En su tramo medio, el A° Carnaval atraviesa la localidad de Villa Elisa, representando por tramos el límite entre ésta y la localidad de City Bell; el A° Martín, por su parte, recorre enteramente City Bell. Las secciones más urbanizadas de ambos arroyos reciben efluentes cloacales domiciliarios y de escorrentía pluvial y el A° Martín, además, recibe los vertidos de una industria farmacéutica (Bagó). El municipio realiza intervenciones periódicas de sus cauces, como

desmalezado de márgenes, dragado y perfilado en ambos arroyos, aunque mayormente en el tramo del A° Martín que atraviesa la única zona no urbanizada de su recorrido medio, el Parque Ecológico Municipal (Fig. 7D). El A° Carnaval, además, se encuentra revestido con concreto en una sección de aproximadamente 750 m (en la porción lindera al margen norte del Parque Ecológico Municipal; Fig. 7B) y en otro pequeño tramo aguas abajo, previo a su confluencia con el A° Martín. Ambos arroyos confluyen a la altura de las vías del ramal Gral. Roca y cursan unidos en mediante el canal artificial Villa Elisa, que atraviesa la Reserva Natural Punta Lara (partido de Ensenada) para desaguar finalmente en el Río de la Plata (Fig. 7E). Esta canalización artificial que suele quedar sin agua o con muy bajo caudal en gran parte de su extensión durante la bajante del Río de La Plata (dos veces al día), en particular en días de viento oeste o de bajantes extremas.

Estudios ecotoxicológicos realizados en la cabecera del A° Carnaval evidenciaron la presencia de numerosos plaguicidas y herbicidas (entre ellos atrazina, endosulfán, cipermetrina, clorpirifos y glifosato) utilizados en la producción florihortícola (Mac Loughlin et al. 2017, Sansiñena et al. 2018), en concentraciones riesgosas para la fauna acuática (Mac Loughlin et al. 2022). Ensayos de laboratorio en los que se expusieron anfípodos (*Hyaella curvispina*) y renacuajos (*Boana pulchella*) a sedimento de las nacientes del A° Carnaval demostraron efectos sub-letales, como inhibición del crecimiento en el primer grupo y presencia de anomalías morfológicas en el segundo (Sansiñena et al. 2018). También se realizó un estudio comparativo de calidad de agua y composición del biofilm entre las nacientes y la parte media del A° Martín. En tal trabajo se demostró una peor calidad de agua y un marcado aumento de nutrientes (en particular de nitratos y fosfatos) en su tramo medio, sumado a la presencia de especies tolerantes a la contaminación y la existencia de una mayor concentración bacteriana, todo ello asociado al uso de suelo urbano de dicha región (Sierra et al. 2013).



Figura 7. Arroyo Carnaval: A) tramo medio, B) tramo medio hormigonado; Arroyo Martín: C) tramo medio previo al Parque Ecológico Municipal, D) Parque Ecológico Municipal; E) canal artificial Villa Elisa.

En estos dos arroyos, la distribución de las dos especies de tortugas en cuestión se manifiesta de manera muy similar (información basada en experiencia previa y en los muestreos realizados para la presente tesis): la zona de las nacientes carece de agua gran parte del año, y por consiguiente de tortugas. En el A° Carnaval, la presencia de *H. tectifera* se detecta a partir del final de tramo de cabecera e inicio del tramo medio (donde el cauce cruza la calle 154) con baja abundancia, y en la zona previa a su confluencia con el A° Martín (entre los caminos Gral. Belgrano y Centenario), con abundancia moderada. En el A° Martín, por su parte, las tortugas aparecen representadas por *H. tectifera* a partir del tramo medio, unos 500 m antes de que el arroyo cruce el camino Gral. Belgrano y hasta la confluencia con el A° Carnaval, con abundancia moderada a baja. En la zona del Canal Villa Elisa la especie dominante (también con abundancia moderada) parece ser *H. tectifera*, donde también se encuentra *P. hilarii*, pero con muy baja abundancia.

Si bien es posible la migración de tortugas entre arroyos de la misma zona o inclusive en diferentes secciones del mismo arroyo a causa de la cercanía de sus cauces y la confluencia de sus tramos medios, ésta es poco probable e infrecuente (ver datos para *H. tectifera* del A° Rodríguez en Semeñiuk et al. 2019). Por tal motivo, los análisis se realizaron de manera separada para las tortugas de *H. tectifera* de los tramos medios de los A° Carnaval y Martín, excluyendo a los individuos que hayan sido capturados en el Canal Villa Elisa. Por otro lado, las tortugas de *P. hilarii*, que están principalmente en la zona del Canal Villa Elisa, se tomaron como una unidad de análisis, con independencia de que algunos ejemplares puedan haber sido obtenidos en uno u otro arroyo en ocasión de que éstas ingresen con crecidas extraordinarias del Río de La Plata.

Arroyo Rodríguez

El A° Rodríguez tiene una longitud aproximada de 22 km y su cuenca hidrográfica abarca 65 km² (Bidegain y Jurado 2011). Su cabecera se ubica entre las localidades de City Bell y Gonet-Gorina, a las cuales separa en la mayor parte de su recorrido. Esta área presenta características periurbanas y semirurales con una urbanización mucho más marcada en su margen sur (B° Melchor Romero) que en su margen norte. Desde la década del 80' existe un

frigorífico (Friggorina) en las proximidades de su margen sur y, hace algunos años, se sumó una “chanchería”, las cuales vierten hacia el arroyo una alta cantidad de desechos sin tratamientos adecuados. Aguas abajo, hacia el tramo medio del cauce y previo al ingreso a zonas de mayor urbanización, el arroyo se encuentra dicado por la administración del barrio privado Grand Bell, la cual colecciona varias denuncias e intervenciones de la Autoridad del Agua Provincial por haber realizado vertido directo de efluentes cloacales de sus residentes. A partir de esta urbanización cerrada y en todo el resto de su tramo medio, el arroyo se encuentra urbanizado en toda su extensión, donde recibe un sinfín de cloacales clandestinos de viviendas aledañas, desagües pluviales y vertido de diversos residuos sólidos urbanos (Fig. 8A y 8B). Hacia el fin de este tramo (inmediaciones del camino Centenario) el cauce comienza a tener algunos segmentos rectificadas, hasta estar todo rectificado en su tramo final, desde la zona del cruce con la autopista Buenos Aires-La Plata hasta la costa del Río de La Plata (Partido de Ensenada). Justo al cruzar la mencionada autopista, el A° Rodríguez se conecta con sendos zanjones (normalmente secos y colmatados de macrófitas) desde los arroyos El Gato (al sur) y del Canal Villa Elisa (al norte).

Diversos estudios (Bauer et al. 2002, Mercado 2000, López Van Oosterom et al. 2015) demostraron que la cuenca media presenta un fuerte aumento de nutrientes y de las demandas química y biológica del oxígeno con respecto de las nacientes, situación que evidencia el ingreso de materia orgánica al sistema. Esta sección del arroyo se catalogó con un nivel alto a muy alto de polución y eutrofización (Bauer et al. 2002) y, según el estudio de Mercado (2000), las concentraciones de oxígeno no superaron los valores recomendados para la protección de la vida acuática. Los estudios de la fauna ictícola demuestran una preponderancia de especies capaces de respirar aire atmosférico en el tramo medio, evidenciando de manera indirecta la baja disponibilidad de oxígeno en el agua de esta sección del arroyo (Remes Lenicov. 2005), así como una baja riqueza específica y abundancia asociadas a la desaparición de especies sensibles (Paracampo et al. 2020). Además, se detectó la presencia de diferentes plaguicidas organoclorados empelados en la práctica hortícola, algunos de ellos (DDD, HCH y endosulfán) en altas concentraciones que representan una amenaza para el ecosistema (López Van Oosterom et al. 2015).

La especie que predomina en el A° Rodríguez es *H. tectifera*, la cual se detectó desde la cabecera (donde el caudal de agua es permanente producto de los vertidos residuales, a diferencia de lo que ocurre en los A° Carnaval y Martín) hasta la sección final cercana a su desembocadura. Por el contrario, la especie *P. hilarii* tiene baja abundancia en todo el arroyo, y se encuentra principalmente en la sección final canalizada, pudiendo llegar en ocasiones aguas más arriba (se detectó un individuo de esta especie en la primera porción del tramo medio (calle 138) y cuatro individuos aguas abajo, en la zona más urbanizada de este tramo (en cercanías del Camino Gral. Belgrano)).



Figura 8. A) y B) tramo medio Arroyo Rodríguez; Arroyo El Gato: C) tramo medio, D) tramo final canalizado.

Arroyo El Gato

El A° El Gato tiene una longitud aproximada de 25 km, abarcando una superficie total de 12.412 Ha. (Romanazzi y Urbiztondo 2011). Es la cuenca más importante en la región del Gran La Plata: recibe los desagües pluviales de la mayor parte del casco urbano y de localidades periféricas y su cuenca se encuentra urbanizada en un 50%, poblada por 351.713 habitantes (Liscia 2013). La porción media atraviesa la periferia de la ciudad de La Plata siendo ésta la sección de mayor densidad poblacional, con importantes asentamientos en sus márgenes, y la de mayor actividad comercial e industrial de toda la cuenca, donde desaguan en forma directa numerosos cloacales domésticos, efluentes industriales y pluviales de escorrentía urbana. Aquí recibe además a sus tributarios, los A° Pérez y Regimiento, los que también transportan una carga importante de efluentes del tipo arriba mencionado. En los últimos años, debido a las frecuentes inundaciones y especialmente a la inundación extraordinaria de abril de 2013, el arroyo ha sufrido una intervención casi absoluta a lo largo de su tramo medio (Fig. 8C), el cual quedó totalmente canalizado e impermeabilizado con concreto, al igual que sus arroyos afluentes que fueron entubados en la mayor parte de su recorrido. Su tramo inferior (ubicado enteramente en el partido de Ensenada), si bien se encuentra canalizado y sufre dragados y perfilados periódicos, hasta el momento no ha sido revestido de hormigón. Este tramo recibe lixiviados del Complejo Ambiental de Ensenada (CEAMSE), la cual procesa 1060 tn/día de residuos sólidos urbanos (<https://www.ceamse.gov.ar/>), y además recibe aguas provenientes de la planta Central Termoeléctrica Ensenada de Barragán (Fig. 8D). Finalmente, el arroyo desagua en el Río Santiago, en las inmediaciones de la ribera rioplatense.

Existen diversos estudios (Mercado et al. 2000, Bauer et al. 2002, Ronco et al. 2001, 2007, Rimoldi et al. 2018, entre otros) que evidencian un marcado deterioro en la calidad del agua de la cuenca en cuanto a parámetros físico-químicos, carga de nutrientes, concentración de metales pesados (Cr, Cu, Ni, Pb, Hg y Zn, entre otros) y contaminación fecal, particularmente

agravada en el tramo medio en relación a la actividad industrial y densidad urbana en este sector.

Respecto a la distribución de las especies de tortugas, *H. tectifera* se distribuye de manera uniforme y con alta abundancia desde el tramo final de la cabecera (calle 173) hasta la desembocadura; mientras que *P. hilarii*, a diferencia de lo ocurre en los anteriores arroyos mencionados, se detecta con abundancia considerable ya desde el tramo medio (calle 25) debido al importante caudal permanente que presenta el arroyo en esta parte producto de las canalizaciones, siendo aún más abundante hacia la sección final previa a su desembocadura.

Arroyo Tubichamini

El A° Tubichamini recorre enteramente el partido de Magdalena y tiene una longitud de 25,3 km y un área de cuenca de 190 km² (Rodrigues Capítulo L. et al. 2020). Hacia el final de su tramo medio su cauce se ensancha considerablemente conformado una serie de lagunas de escasa profundidad conocidas como “Cañada Arregui”. Posteriormente, la cañada del arroyo se pierde en bañados más indefinidos luego de cruzar la Ruta Provincial 11 y retoma su cauce (en parte ayudado por una breve canalización artificial), hasta encontrarse con el A° Espinillo, cuyo régimen está en la zona de influencia de las mareas del Río de La Plata. En todo su recorrido, el arroyo Tubichamini atraviesa suelos de uso rural extensivo, mayormente dedicados a la ganadería lechera en pastura natural, y algunos sembradíos de maíz o soja, pero que no constituyen la actividad dominante; no atraviesa centros urbanos ni tiene viviendas linderas a su cauce, no presenta industrias radicadas en su cuenca y es cruzado solo por tres caminos (dos caminos rurales de ripio y la Ruta Provincial 11).

Estudios recientes realizados en los A° Tubichamini, El Gato y Carnaval revelaron diferencias significativas en diversos indicadores de calidad del ambiente a favor del primero respecto de los segundos. El A° Tubichamini presentó mejores parámetros fisicoquímicos e índices bióticos, una mayor diversidad y riqueza de especies plactónicas y bentónicas (macroinvertebrados), tramas tróficas más complejas y presencia de especies sensibles a la contaminación (Alvarez et al. 2020, Rodrigues Capítulo A. et al. 2020).

Para este arroyo, hasta el momento, se han verificado dos de las tres especies de tortugas dulceacuícolas que habitan la provincia de Buenos Aires: *H. tectifera*, que habita toda la extensión del arroyo, pero es más abundante en la zona de nacientes y particularmente en las áreas con mayor vegetación de su tramo medio; y *P. hilarii*, que habita en toda la extensión del arroyo, pero es escasa o ausente en ciertas áreas donde la profundidad es más baja y la abundancia de macrófitas es alta.

Arroyo Buñirigo

El A° Buñirigo (partido de Magdalena, Buenos Aires) tiene una extensión aproximada de 27,9 km. Las nacientes y primera porción del tramo medio de este arroyo comparten con el A° Tubichamini la inexistencia de centros urbanos emplazados sobre la cuenca. Del mismo modo, la zona de cabecera está atravesada solo por un camino de tierra escasamente transitado. En su tramo medio, unos kilómetros antes de alcanzar la Ruta Provincial 11, el cauce forma un extenso bañado similar a la Cañada Arregui del A° Tubichamini pero que, por obras de drenaje y zanjeo realizadas en los últimos 40 años, suele hallarse sin cantidades significativas de agua (a excepción de periodos de lluvia intensa y poca evaporación), conformando una zona de desconexión entre esta primera porción del arroyo (cabecera y primer porción del tramo medio, de aquí en más: sector B1, Fig. 9B) y las siguientes (resto del tramo medio y desembocadura con influencia de agua del río, de aquí en más: sector B2, Fig. 9C). Aguas abajo de esta región, en el tramo que cruza la Ruta Provincial 11, el arroyo se encuentra canalizado artificialmente para facilitar el drenaje de la zona de cañadas y bañados propia de la planicie costera, donde recibe efluentes de una curtiembre y de una planta alimenticia de Nestlé. En esta región la actividad predominante es la ganadería extensiva para producción lechera. A partir de esta porción canalizada el arroyo se conoce como “A° Atalaya”, representando el tramo final del cauce y donde su recorrido vuelve a ser meandrroso, con profundidades que pueden ir de los 50 cm a más de cuatro metros dependiendo de las mareas propias del Río de La Plata. El último tramo bordea el margen noroeste del pueblo de Atalaya, el cual tiene 720 habitantes (INDEC 2010) y varias viviendas de fin de semana linderas al arroyo. La desembocadura del arroyo es en el puerto de Atalaya, cuya

historia se remonta hacia mitad del siglo XIX, época en la que se instalaron saladeros de carne en las márgenes del cauce y que, hacia fin de siglo, fueron abandonados para devenir en un puerto donde actualmente se practica pesca artesanal y actividad náutica recreativa. Estudios realizados en la porción media canalizada del arroyo clasificaron la calidad del agua como “muy contaminada”, con un alto contenido de nutrientes, asociado con el ingreso de vertidos industriales (Mercado 2000, Bauer et al. 2002). Finalmente, es necesario destacar que este arroyo fue afectado por un derrame de 5.500 m³ de petróleo por parte del buque Estrella Pampeana de la petrolera Shell, ocurrido en el año 1999 a 24 km de la costa (<https://www.petroleomagdalena.com/>). Este hecho afectó una amplia región en los partidos de Ensenada, Berisso, Magdalena y Punta Indio, pero fue particularmente grave en la zona de los balnearios de Magdalena, Atalaya y alrededores, donde la mancha de petróleo penetró hasta 300 metros hacia adentro de la línea de costa.

Para este arroyo se han verificado las tres especies de tortugas dulceacuícolas que habitan la provincia de Buenos Aires. La de mayor distribución a lo largo de toda la extensión del arroyo es *H. tectifera*, seguida por *P. hilarii* (la más abundante en todo el arroyo) la cual falta solo en las zonas más próximas a la cabecera y, por último, *Trachemys dorbigni*, muy escasa y mayormente presente en la zona de influencia de aguas del Río de La Plata, con la detección de solo un ejemplar en el sector B1. También se ha reportado la presencia de individuos aislados de la especie exótica *T. scripta elegans* (Alcalde et al. 2012).



Figura 9. A) tramo medio Arroyo Tubichamini; Arroyo Buñirigo: B) sector B1, C) sector B2.

1.6.2.2. Cuenca de pendiente atlántica

Rio Sauce Grande

El rio Sauce Grande se origina en la parte sur del sistema serrano de Ventania y forma parte del principal sistema fluvial de la región suroeste de la provincia de Buenos Aires. Tiene una

longitud total de 200 km y su cuenca abarca 4856 km² (Gómez y Toresani 1999); más del 50% de su superficie se utiliza para producción de pasturas para ganado (cultivo de forrajeo y en pastizales naturales) y el porcentaje restante para secano (La Colla et al. 2019). Su régimen es frecuentemente torrencial con fuertes variaciones interanuales. La cuenca alta se extiende desde las nacientes en el cordón serrano hasta el Embalse Paso de las Piedras, abarcando parte de los partidos de Tornquist, Coronel Pringles y Coronel Suarez, siendo la parte con mayores alturas y mayor densidad de drenaje. Este embalse abastece de agua potable a las ciudades de Bahía Blanca y Punta Alta y al polo industrial cercano, por lo cual es prioridad su monitoreo (Aduriz et al. 2003). En el tramo medio de la cuenca alta el río atraviesa tres localidades: Sierra de la Ventana, Villa Arcadia y Sandulgaray. El uso del suelo en la cuenca alta es predominantemente ganadero y en segundo lugar agrícola (Aduriz et al. 2003). La vegetación acuática está representada por especies como Helechito de agua (*Myriophyllum demersum*), Espiga de agua (*Potamogeton* sp.), Junco (*Schoenoplectus californicus*), Catay dulce (*Polygonum punctatum*), Margarita de bañado (*Senecio bonariensis*); la vegetación de las márgenes es predominantemente herbácea con especies como Paja vizcachera (*Stipa ambigua*) y Grama común (*Cynodon dactylon*) y en algunos sectores con presencia de Sauces criollos (*Salix humboldtiana*) más árboles y arbustos exóticos en especial en los tramos urbanos. El lecho es rocoso y los sedimentos son de granulometría variable, desde limo y arena hasta cantos rodados de distinto tamaño (Gil y Campo 2006). Aguas abajo del embalse, el cauce continúa por una amplia llanura sin afluentes importantes, y hacia su tramo inferior forma la laguna Sauce Grande, desaguando finalmente en el Océano Atlántico, al norte de la localidad de Monte Hermoso. El uso del suelo en la cuenca media y baja es predominantemente agrícola. Estudios preliminares sobre la calidad del agua en relación a la presencia de metales y de carga de nutrientes a lo largo de todo el río arrojaron diferencias en las concentraciones de Cu, Cr, Mn, Ni, Pb y Zn entre la cuenca alta y las cuencas media y baja (en algún caso superando los niveles guía para la protección de la vida acuática), asociado probablemente al uso de fertilizantes y herbicidas (La Colla et al. 2019). La única especie de tortuga de agua presente en este curso es *H. tectifera*, la cual estaría presente al menos entre las localidades de Sierra de La Ventana (Di Pietro et al. 2012) y el

Embalse Paso de Las Piedras, donde es frecuente su captura accidental por parte de pescadores deportivos.

1.6.2.3. Arroyos serranos

Los arroyos serranos donde se realizó esta tesis están ubicados en el Valle de Punilla, limitado al este por las Sierras Chicas y al oeste por las Sierras Grandes, al noroeste de la provincia de Córdoba. Forman parte de un conjunto de cuencas de bajo orden que nacen en las Sierras Grandes (particularmente en el macizo Los Gigantes) y que desaguan de forma directa o a través de cursos de mayor orden en el espejo artificial del Lago San Roque, el cual por medio del Río Suquía, tributa a la Laguna Mar Chiquita (Vázquez et al. 1979). Ambos arroyos comparten las características propias de las cuencas de la zona: en sus cabeceras tienen mayor pendiente con lecho de roca granítica y canto rodado, condición que se va modificando aguas abajo donde la pendiente es menor y los sedimentos disminuyen su granulometría (rocas más pequeñas, arena y grava); sus recorridos son meandrosos con alternancia de regiones someras y pozones más profundos; sus aguas son claras debido a la baja concentración de sólidos en suspensión y su caudal depende fundamentalmente de las lluvias. La vegetación nativa circundante es la característica del distrito serrano del Chaco (Cabrera 1976, Luti et al. 1979, Cingolani 2022), con bosque serrano dominado por el Molle de beber (*Lithrea molleoides*) y otras especies arbóreas como Coco (*Zanthoxylum coco*) y Tala (*Celtis tala*), y arbustivas como Romerillo (*Heterotalamus alienus*), Chilca (*Eupatorium bunii-folium*), Crucero (*Colletia spinosissima*) y herbáceas tales como la Carda (*Eryngium* sp.) y Cortadera (*Cortadeira* sp.), entre otras. Todo ello en coexistencia con árboles exóticos como Pino (*Pinus* sp.) y Eucalipto (*Eucaliptus* spp.), entre otros. El uso del suelo en esta región es principalmente para cría de ganado (sobre todo caprino), siendo escasos los campos utilizados para producción agrícola.

En estos arroyos solo se conoce que habite la especie *H. tectifera*, habiéndose reportado además individuos liberados de *T. dorbigni* (Sánchez et al. 2019) y de *T. scripta elegans* (Lescano com. pers.).

Arroyo Tanti

El arroyo Tanti tiene una extensión de 15 km y un área de 84 km² (Wunderlin 2018). Aguas abajo de su cabecera en el cordón serrano, atraviesa de oeste a este la localidad homónima (Departamento de Punilla), la cual cuenta con 6.554 habitantes (INDEC 2010). Aquí recibe los desagües urbanos de la ciudad y es también un concurrido atractivo turístico en épocas estivales, momento en el que la población suele duplicarse o triplicarse. El cauce presenta sus características originales en la mayor parte de su recorrido por la ciudad, estando levemente modificado en algunos tramos donde se encuentra limitado por cordones de piedra y concreto, conformando pequeños diques. La vegetación acuática está presente principalmente en las márgenes, donde se forman matas de plantas enraizadas flotantes tales como Duraznillo (*Ludwigia bonaerensis*) y Redondita de agua (*Hydrocotyle ranunculoides*). Posteriormente a su paso por la ciudad de Tanti, el arroyo pasa por la periferia de otros municipios más pequeños, recibe las aguas del A° Mallín y unos kilómetros más adelante atraviesa la localidad de Villa Parque Siquimán, un poblado de menos de 2000 habitantes que representa otro importante sitio turístico de la región. Aquí el curso recibe el nombre de A° Las Mojarras, el cual desemboca finalmente en el Lago San Roque.

Si bien al momento no se conocen estudios que den cuenta de la calidad del agua en las nacientes o la cuenca media del A° Tanti, sí se han realizado estudios en la desembocadura de los distintos arroyos tributarios del Lago San Roque debido a la problemática de eutrofización que experimenta este embalse, el cual constituye la principal fuente de abastecimiento de agua potable para la Ciudad de Córdoba. Los resultados arrojaron altos valores de pH (al igual que en el resto de la cuenca), baja carga de nutrientes (nitratos y fosfatos), baja concentración de bacterias coliformes y alta diversidad de especies planctónicas (Rodríguez et al. 2000, Rodríguez et al. 2006, Daga et al. 2020).



Figura 10. Tramos medios de los Arroyos: A) Sauce Grande; B) Tanti; C) Toro Muerto.

Arroyo Toro Muerto

El arroyo Toro Muerto tiene una extensión aproximada de 10 km, y está ubicado aproximadamente a 4 km al sur del A° Tanti. Forma parte de una serie de cursos de bajo orden que corren en paralelo en dirección NO-SE hacia el A° Los Chorrillos, otro de los tributarios del Lago San Roque. Hacia su tramo medio-final, previo a su desagüe en el mencionado arroyo, atraviesa el paraje Villa Flor Serrana, un pequeño poblado turístico de tan solo 50 habitantes

(INDEC 2010), con viviendas de fin de semana y veraneo. La vegetación acuática no es abundante y se observa sobre todo en las márgenes, representada por especies como Lagunilla (*Alternanthera philoxeroides*), Jacinto de agua (*Eichornia crassipes*) y Repollo de agua (*Pistia stratiotes*). Dado que no atraviesa ningún centro urbano importante y no existen industrias linderas que realicen vertidos hacia sus aguas, su cuenca se encuentra prácticamente libre de disturbios antrópicos.

Al igual que lo mencionado para el A° Tanti, no se cuenta con bibliografía que trate parámetros de calidad de agua a lo largo del A° Toro Muerto particularmente. La información disponible a partir de estudios relativos a la cuenca del Lago San Roque corresponde con la zona de la desembocadura del A° Los Chorrillos, un área fuertemente influenciada por la creciente urbanización de la periferia de la ciudad de Villa Carlos Paz.

La Tabla 1 muestra los usos de suelo predominantes asociados a las cuencas de los arroyos estudiados, los valores de los parámetros fisicoquímicos obtenidos durante los muestreos correspondientes y una escala de perturbación para cada arroyo, la cual fue planteada en base al uso del suelo predominante, los valores de oxígeno disuelto y conductividad medidos, la bibliografía citada para cada arroyo y las observaciones personales durante el trabajo de campo.

Tabla 1. Usos de suelo, nivel de perturbación y valores promedio (y desvío estándar) de los parámetros fisicoquímicos medidos en los arroyos del área de estudio. OD= oxígeno disuelto; Temp.= temperatura; Cond.= conductividad.

Tipo de cuenca	Arroyo	Uso del suelo predominante	pH	OD (mg/l)	Temp. (C°)	Cond. (S/m)	Nivel de perturbación
Tributarios del Rio de la Plata	Carnaval	Agricultura intensiva Urbano	7,6 (0,6)	7,57 (1,98)	21,8 (3,6)	7,2 E-4 (3,8 E-4)	Medio
	Martín	Agricultura intensiva Urbano Industrial	8,1 (0,2)	12,8 (1,2)	18,7 (4,3)	8,8 E-4 (1,6 E-4)	Alto
	Rodríguez	Agricultura intensiva Urbano Industrial	7,7 (0,5)	6,33 (3,58)	21,3 (7,5)	8,7 E-4 (3,6 E-4)	Alto
	El Gato	Agricultura intensiva Urbano Industrial	7,8 (0,2)	3,95 (1,6)	21,8 (5)	7,7 E-4 (3,4 E-4)	Muy alto
	Tubichamini	Ganadería	7,8 (0,4)	11,1 (3,9)	22,1 (4,4)	7,9 E-4 (2,5 E-4)	Bajo
	Buñirigo (B1)	Ganadería	7,9 (0,6)	11,8 (1,87)	18,5 (3,2)	4,9 E-4 (2,2 E-4)	Bajo
	Buñirigo (B2)	Ganadería Industrial Urbano recreativo	7,6 (0,2)	6,8 (2,82)	23,3 (3,8)	0,001 (0,002)	Alto
Pendiente atlántica	Sauce Grande (cuenca alta)	Ganadería Urbano	8,4 (0,07)	13,4 (0,7)	19,9 (3,4)	4,3 E-4 (3 E-5)	Bajo
Serranos	Tanti (tramo medio)	Urbano	7,3 (0,1)	8,09 (0,97)	18,9 (2,7)	3,4 E-4 (5,7 E-4)	Bajo
	Toro Muerto	Turístico recreativo	7,5 (0,2)	7,86 (1,11)	27,6 (1)	1,9 E-4 (2,9 E-4)	Muy bajo

1.6.3. Sitios de muestreo

En cada curso de agua se eligieron los sitios de muestreo convenientes de acuerdo a:

-presencia y abundancia de cada una de las especies: *H. tectifera* suele ocupar toda la variedad de ambientes posibles de los arroyos mencionados ya que, por su hábito caminador de fondo, no necesita una columna de agua importante y parece no verse afectada por cierta abundancia de macrófitas, a la vez que también es capaz de ocupar zonas de mayor profundidad; mientras que *P. hilarii* prefiere zonas de cauce más ancho, columna de agua más profunda y existencia de áreas libres de vegetación acuática, particularmente los adultos (los juveniles tienen más tolerancia a zonas de menor caudal de agua y mayor cobertura de macrófitas). Por esta razón, si bien mayormente se priorizó trabajar en los tramos cohabitados por ambas especies, particularmente en los arroyos del Gran La Plata fue necesario muestrear en distintos sitios dada la diversidad de ambientes y la abundancia diferencial que presentan las dos especies estudiadas: en general en los tramos medios *H. tectifera* es más abundante mientras que *P. hilarii* tiene baja o nula abundancia; esta última se encuentra principalmente en las secciones finales, donde la abundancia de *H. tectifera* es moderada (Fig. 11).

-usos del suelo: en los arroyos tributarios del Río de la Plata pertenecientes al Gran La Plata se muestreó en secciones de mayor urbanización y peor calidad del agua, coincidentemente con los tramos medio y final de los arroyos; en el A° Tubichamini los muestreos se realizaron en las nacientes, tramo medio (en el arroyo y la Cañada Arregui) y en el tramo final (A° Espinillo), todos sectores con práctica de ganadería extensiva; para el caso del A° Buñirigo se escogieron dos sectores: cabecera y tramo medio-alto (B1), y tramo medio-bajo y final (B2), con condiciones altamente contrastantes en cuanto a calidad del agua y disturbio antrópico que reciben (ver descripción del arroyo), separados entre sí por un gran área de bañado (generalmente seca) (Fig. 11). En el A° Sauce Grande se muestreó en sectores del ejido urbano de la localidad de Sierra de la Ventana, tanto en el cauce principal como en sus tributarios (Fig. 12). Por último, en los A° Tanti y A° Toro Muerto se escogieron tramos aledaños al ejido urbano de la localidad de Tanti y en la periferia del paraje Villa Flor Serrana, respectivamente (Fig. 13).

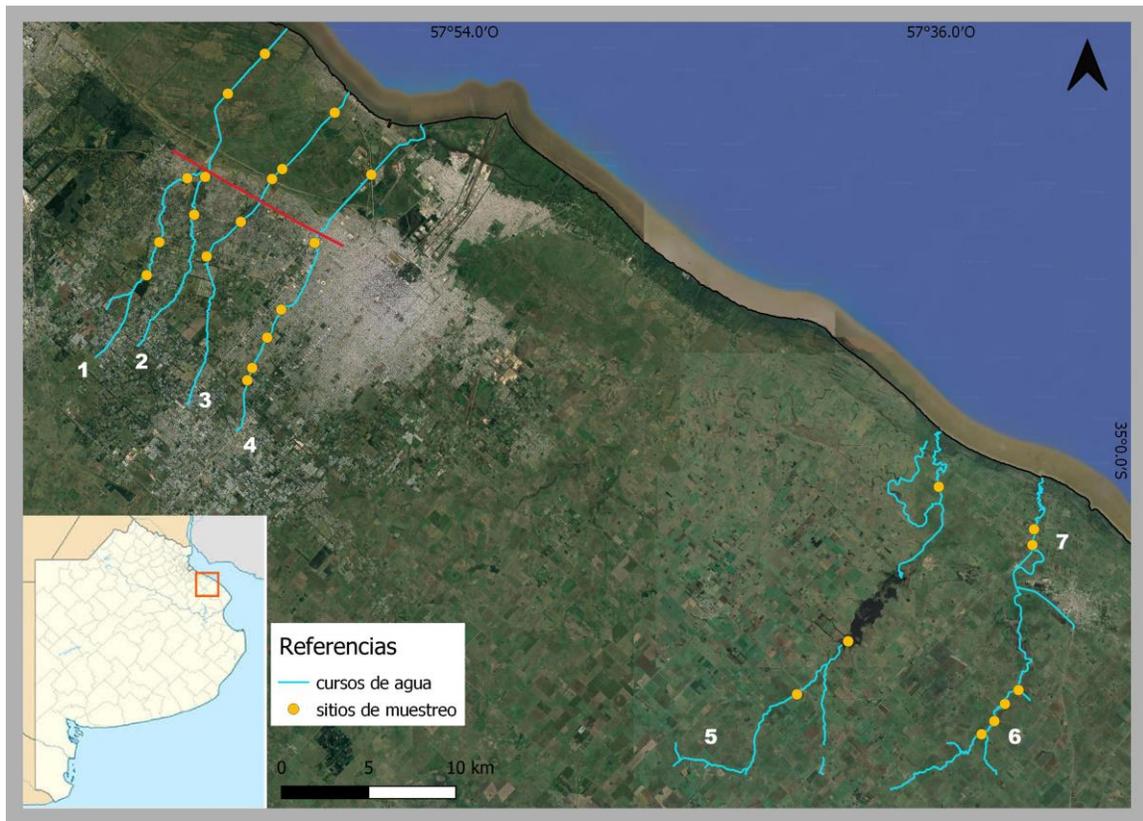


Figura 11. Ubicación de los sitios de muestreo en los arroyos tributarios del Río de la Plata. 1= A° Carnaval; 2= A° Martín; 3= A° Rodríguez; 4= A° El Gato; 5= A° Tubichamini; 6= sector B1 y 7= sector B2, A° Buñirigo. La línea roja marca la zona aproximada desde la cual aguas arriba se encuentra solo la especie *H. tectifera*.

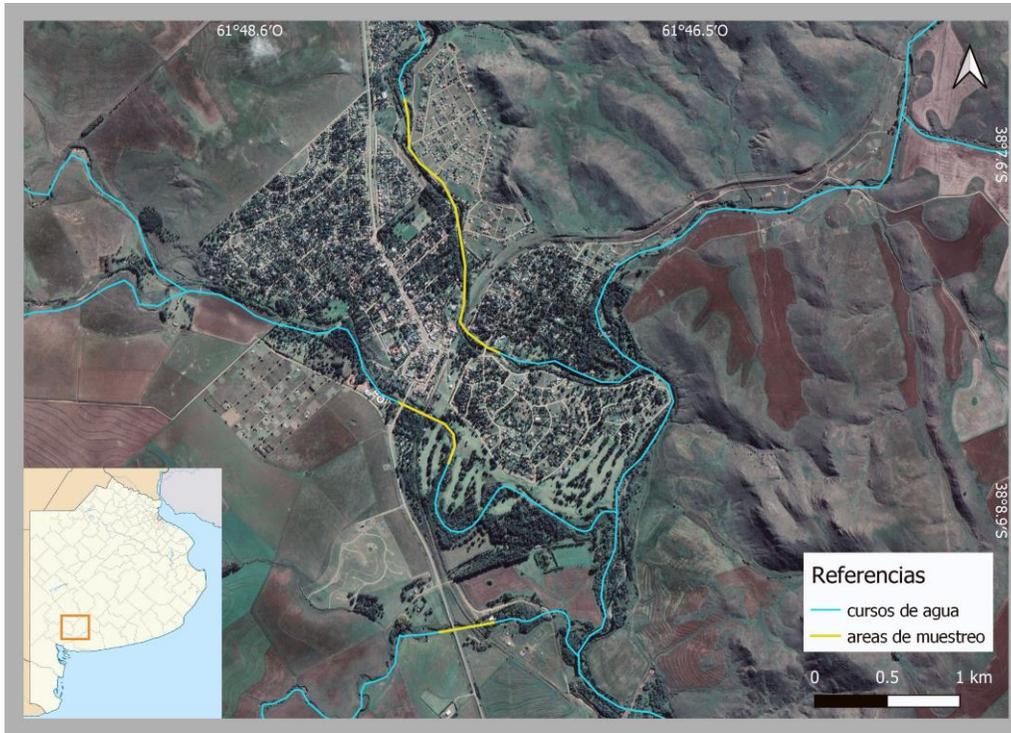


Figura 12. Ubicación del área de muestreo en el A° Sauce Grande.

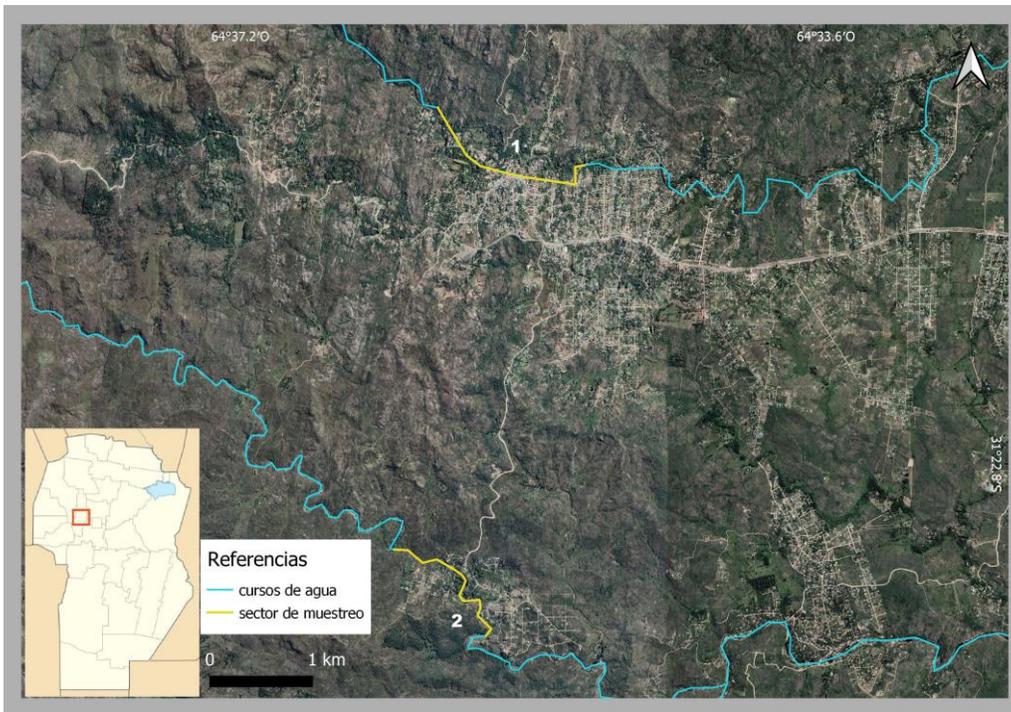


Figura 13. Ubicación del área de muestreo en los arroyos serranos. 1= Tanti; 2= Toro Muerto.

Capítulo 2. Enfermedad ulcerativa del caparazón y otros parámetros de condición sanitaria de *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii* en ambientes con distinto impacto de contaminación

2.1. Introducción

El caparazón de las tortugas está conformado por una porción dorsal, o espaldar, y una ventral, o plastrón, unidas por medio de un puente a cada lado del mismo (Zug et al. 2001). La totalidad de la estructura se compone de placas óseas compactas revestidas externamente por dermis, epitelio y escudos epidérmicos queratinizados cuya disposición espacial no coincide con la de las placas óseas subyacentes, lo que confiere rigidez y colabora en mantener la integridad del caparazón (Barten 2006). El espaldar tiene un doble origen dado que está constituido por placas dérmicas, algunas de las cuales embeben parte del esqueleto axial (costillas y vertebrae dorsales y sacras), mientras que el plastrón está conformado sólo por placas de hueso dérmico más la interclavícula que suele quedar incluida en la matriz ósea del entoplastrón (Burke 1991, Bona y Alcalde 2009).

Las enfermedades en el caparazón son causa frecuente de morbilidad y mortalidad en tortugas silvestres y cautivas (Barten 2006, Roskopf y Shindo 2003, Hernandez-Divers et al. 2009, Aleksić-Kovačević et al. 2014). En general, estas patologías se originan por algún tipo de trauma como fracturas o mordeduras, malnutrición o infecciones causadas por enterobacterias y hongos. Las patologías infecciosas, entre ellas la enfermedad ulcerativa del caparazón, se presentan en tortugas acuáticas en asociación con mala calidad del agua, pocos sitios de asoleamiento, existencia de sustratos y superficies abrasivas y temperaturas inadecuadas, todos factores que en general ocurren en tortugas en cautividad (Boyer 2006).

Este Capítulo se centra en el análisis de los daños y patologías que puede presentar el caparazón de las dos especies de tortuga aquí estudiadas cuyas poblaciones habitan arroyos con diferentes calidades ambientales, así como otros parámetros que den cuenta de la

integridad y el estado sanitario en el que se encuentra cada población, los cuales se describen en los siguientes apartados.

2.1.1. Ulceraciones cutáneas

Las ulceraciones cutáneas se definen como discontinuidades en la epidermis, con exposición de la dermis subyacente o de los tejidos profundos (Cooper 2006). Esta patología ha sido reportada en varias especies de tortuga de agua dulce como enfermedad ulcerativa del caparazón (USD, en inglés). Las ulceraciones pueden llegar a septicemia, presentándose un cuadro severo que implica necrosis en los órganos internos y, como se refirió anteriormente, se lo conoce como enfermedad ulcerativa cutánea septicémica (SCUD, en inglés). En el proceso están implicadas una variedad de bacterias Gram negativas, e incluso podría existir una relación sinérgica entre ellas. En estudios recientes se logró aislar varias especies de hongo asociadas a ulceraciones caparaciales en tortugas cautivas y silvestres de distintas especies (Woodburn et al. 2019, Woodburn et al. 2021). Sin embargo, no habría un consenso claro acerca de si la SCUD es un estado avanzado que se inicia con la presencia de úlceras en el caparazón o si se trata de dos patologías diferentes (Granados et al. 2013).

La SCUD fue descrita por primera vez por Kaplan (1957) en individuos cautivos de diferentes especies de emídidos de los géneros *Pseudemys*, *Chrysemys* y *Emys* provenientes del norte de Estados Unidos. Las tortugas presentaban ulceraciones cutáneas, principalmente en miembros, con un progresivo deterioro de la piel, sumado a pérdida del tono muscular, aletargamiento general y pérdida de dedos y uñas. Al cabo de unas semanas la gran mayoría de ellas murió. A partir de lesiones cutáneas, sangre y órganos internos se logró aislar la bacteria coliforme *Citrobacter freundii* que sería el aparente agente etiológico. Esta bacteria habita en el suelo y el agua, y puede encontrarse sin generar daño en el tracto digestivo de animales, incluyendo el ser humano, pero se volvería patogénica fuera de su hábitat habitual. Es probable que ingrese a través de zonas dañadas del epitelio de la tortuga, generando las ulceraciones cutáneas, pudiendo llegar luego a otros tejidos por vía sanguínea.

Años más tarde, Wallach (1975) describe la enfermedad ulcerativa del caparazón a partir de diferentes especies de tortugas pleurodiras y criptodiras dulceacuícolas provenientes de poblaciones en cautividad e identifica una nueva bacteria Gram negativa (*Beneckea*

chitinovora) implicada en la patología. Este autor describe la USD como una enfermedad altamente infecciosa que afecta en principio a las escamas córneas del espaldar y el plastrón, con tendencia a ser contagiosa, crónica y autolimitante; sin embargo, pueden aparecer infecciones secundarias que generalmente terminan matando a la tortuga afectada. Asimismo, resalta que la patogénesis de la USD depende de la presencia de la bacteria en el ambiente y de una lesión previa en la piel o el caparazón para facilitar el ingreso del patógeno.

Un estudio sobre el estado de una población natural de *Sternotherus depressus*, un kinosternido endémico de Estados Unidos, reportó la SCUD en individuos enfermos que fueron capturados y mantenidos en cautiverio previo a su defunción por la enfermedad (Dodd Jr. 1988). Si bien el autor no determinó la etiología de la enfermedad, sí logró aislar varias especies de bacteria a partir del análisis de órganos internos. En ese estudio también se destaca la posibilidad de que ciertos contaminantes ambientales puedan afectar el sistema inmune de los individuos, permitiendo que patógenos que están normalmente en el ambiente invadan los tejidos.

Otras investigaciones en poblaciones naturales de *Trachemys scripta*, *Pseudemys rubiventris* y *P. concinna* (Lovich 1996, Garner 1997, Bishop et al 2010) también manifiestan que la presencia de compuestos químicos tóxicos e inmunosupresores en el hábitat pueden actuar como factores que predisponen el desarrollo de la enfermedad ulcerativa del caparazón. Bishop (2010) plantea que es probable que la patología sea el resultado de una conjunción de múltiples factores mecánicos, químicos y microbiológicos.

A partir de un estudio de colonias reproductivas en cautividad de la tortuga *Trachemys scripta elegans* (Feldman y Feldman 2011) los autores concluyen que cualquier daño (principalmente roces o colisiones con materiales duros) en la capa de queratina del caparazón puede iniciar el proceso ulcerativo, el cual puede resolverse de forma espontánea o evolucionar en cuadros fatales de septicemia al cabo de algunos años. En el caso de esta especie, que practica asoleamiento aéreo, la disponibilidad de sitios propicios para exposición al sol sería determinante para evitar que las ulceraciones progresen.

Como se expuso, la mayoría de los registros de la enfermedad ulcerativa cutánea (en sus fase septicémica o no septicémica) son para tortugas acuáticas del hemisferio norte (Emydidae, Kinosternidae), muchos de ellos a partir de especímenes en cautividad. Para Sudamérica existe solo un estudio realizado en una población cautiva de la especie *Trachemys callirostris* (Otero et al. 2014), en la cual se observó una alta prevalencia de SCUD que los autores asocian a la higiene precaria del ambiente.

2.1.2. Daños erosivos superficiales y lesiones traumáticas en caparazón

Los daños superficiales y erosivos en los escudos de queratina que recubren las placas óseas suelen ser comunes en tortugas acuáticas, y se caracterizan por decoloraciones o defectos en las placas (Barten 2006). La mayoría de las veces suelen ser daños puntuales, aunque también pueden expandirse en áreas más amplias. Parte o la totalidad de la placa afectada en general termina perdiéndose.

Por otro lado, las lesiones traumáticas en el caparazón de las tortugas, como fracturas o perforaciones, se presentan con frecuencia en tortugas terrestres y acuáticas, y se deben principalmente a mordeduras de animales, golpes, caídas y causas antropogénicas como atropellamientos y colisiones con automóviles, lanchas y maquinaria agrícola, entre otras (Saumure y Bider 1998, Bennett y Litzgus 2014, Biaggini y Corti 2018, Moraru et al 2018). Estos tipos de daños son más susceptibles de ocurrir en zonas urbanas o con actividad humana importante. Las incursiones al medio terrestre, en particular de las hembras, suelen facilitar esta clase de accidentes y daños (Bulté et al. 2010, Steen et al. 2012, Crump et al. 2016). Si bien muchos individuos pueden sobrevivir a este tipo de daño debido al gran poder de regeneración que tienen el caparazón y la epidermis de las tortugas (Barten 2006), su desempeño individual puede verse severamente afectado.

2.1.3. Epibiontes

Se denomina epibiosis al crecimiento de un organismo vivo sobre la superficie externa de otro (Wahl 1989). Este fenómeno puede tener efectos negativos sobre los hospedadores, como el incremento en el peso y la fricción, disminución del movimiento y la flexibilidad y disminución en el acceso a la luz, entre otros; o puede tener efectos beneficiosos como la

generación de un camuflaje óptico y químico y protección de la desecación y de la radiación dañina, entre otros (Wahl y Mark 1999).

La epibiosis ha sido bien documentada para varias especies de tortugas dulceacuícolas (Edgren et al. 1953, Gibbons 1968, Ryan y Lambert 2005, Garbary et al. 2007, Burgin y Betts 2012, Akgul et al. 2014, Ersanli y Gonulol 2014, Bury et al. 2015, Rodrigues y Silva 2015, Wu y Bergey 2017, entre otros). Entre los grupos epizoicos mejor representados se encuentran las algas (el género más común es *Bacillaria* aunque hay más de 60 taxones diferentes registrados) y los hirudíneos tanto ectocomensales como ectoparásitos. Las especies de tortuga incluidas en esta tesis, entre otras especies neotropicales, suelen también presentar poblaciones de platelmintos del orden Temnocephalida, muchas veces con importante abundancia (Brusa y Damborenea 2000, Soares et al. 2006, Novelli et al. 2009, Martínez-Aquino et al. 2014, Seixas et al. 2014), además de diversas especies de moluscos, crustáceos, coleópteros y dípteros, entre otros grupos taxonómicos (Huckembeck y Quintela 2013).

Los daños, beneficios o inocuidad de ciertas epibiosis en tortugas de agua dulce no están del todo claros. Se ha sugerido que podría existir una relación de comensalismo mediante la cual los organismos epibiontes obtienen un medio de dispersión, mayor acceso a luz y nutrientes (particularmente las algas) en asociación al movimiento de la tortuga hospedadora, o que incluso podría ser un tipo de mutualismo por medio del cual el epibionte proveería camuflaje a la tortuga hospedadora (Edgren et al. 1953, Ersanli y Gonulol 2014). Respecto a la cobertura de algas, se sugirió que su crecimiento prolongado sobre el caparazón de las tortugas podría generar pequeños orificios en la queratina, permitiendo el ingreso de patógenos bacterianos (Barten 2006). En un estudio reciente se describe el desarrollo de una enfermedad en el espaldar de la tortuga semi-acuática *Kinosternon flavescens* (Christiansen et al. 2020): el proceso se inicia con la aparición de pequeños poros cubiertos de algas verdes que aumentan progresivamente en número y tamaño y culmina con la conformación de incrustaciones algales en las placas que se observan como zonas oscuras elevadas y rugosas, en general agrupadas entre sí. En los casos más severos, se produce la exposición del hueso subyacente por pérdida de los escudos dañados.

Diversos factores ambientales influyen en el crecimiento de algas sobre diferentes superficies en ambientes lóticos, como el uso del suelo, las características físico químicas del agua (turbidez, concentración de nutrientes, velocidad de la corriente, etc.) y el tipo de sustrato donde se asientan. Así mismo, algunos de estos factores también tienen estrecha relación con la presencia y diversidad de la fauna que habita en los distintos sectores de los cursos de agua lóticos (Ometo et al. 2000).

2.1.4. Índice de Condición Corporal

El estado general de una tortuga puede expresarse a través de índices que reflejan la condición corporal. Estos Índices de Condición Corporal (ICC) permiten evaluar el estado general de un individuo de manera no invasiva mediante el empleo de la relación alométrica entre longitud y peso. Su principal objetivo es separar los aspectos de la masa corporal relacionados al tamaño estructural de los aspectos asociados a grasas y otras reservas energéticas (Green 2001). La condición corporal se considera un importante indicador del estado físico de un individuo dada su relación con parámetros ecológicos como supervivencia, inversión en la reproducción, carga parasitaria, selección de pareja, stress ambiental, entre otros (Polo-Cavia et al. 2010, Băncilă et al. 2010). Un individuo con un ICC positivo indica que posee una cantidad de tejido capaz de metabolizarse (grasas y proteínas) por encima del promedio para una determinada talla, y viceversa (Schulte-Hostedde et al. 2005). Por tanto, un individuo con un valor positivo de ICC podría considerarse en mejor condición que uno con un valor negativo.

2.1.5. Proporción de sexos

La proporción de sexos 1:1 en los adultos de poblaciones animales es considerada como una estrategia evolutiva estable (Fisher 1930). La misma representa un parámetro demográfico de interés dado que las poblaciones que presentan desbalances en esta proporción pueden acarrear efectos negativos en la reproducción, el tamaño y la persistencia poblacional. El origen de tales sesgos radica en diversos factores ambientales, biológicos y comportamentales, tales como diferencias entre sexos en la mortalidad, la edad de maduración de los individuos y las tasas de inmigración o emigración, así como en la proporción de sexos de las crías (Gibbons 1990).

Respecto a las tortugas dulceacuícolas, si bien en la mayoría de las especies los adultos exhiben una proporción de sexos de 1:1, en las últimas décadas se han detectado numerosas poblaciones de diferentes especies con una marcada desviación en favor de los machos (Dodd 1989, Edmonds y Brooks 1996, Takenaka y Hasegawa 2001, Smith y Iverson 2002, Aresco 2005, Gibbs y Steen 2005, Georges et al. 2006, Steen et al. 2006, Browne y Hecnar 2007, Reid y Peery 2014, Dupuis-Désormeaux et al. 2017, entre otros). En la mayoría de los casos, este hecho es explicado por la mortalidad diferencial de las hembras producto de atropellamientos vehiculares durante sus excursiones terrestres (basada en diferencias entre sexos en el uso de hábitat y la dispersión). La pérdida de individuos sexualmente maduros (particularmente hembras) se vuelve difícil de compensar en poblaciones con bajo reclutamiento y madurez sexual tardía como las tortugas.

Por otro lado, otros estresores ambientales como la presencia de contaminantes químicos (ej., compuestos organoclorados) pueden alterar la proporción de sexos poblacional dado que operan como disruptores endócrinos incidiendo en la diferenciación sexual de los individuos (Bergeron et al. 1994, de Solla et al. 1998, Willingham y Crews 1999). Por último, ciertos sesgos en la proporción de sexos pueden tener origen en modificaciones de las condiciones térmicas de los nidos, dado que en la mayoría de las especies de tortugas (y de los reptiles en general) el sexo de las crías es determinado por la temperatura de incubación. Estas están relacionadas principalmente con un aumento global de la temperatura producto del cambio climático (Janzen 1994, Schwanz et al. 2010, Butler 2019) así como con modificaciones estructurales del hábitat de origen antrópico (ej. urbanización, agricultura) que alteran las zonas de nidificación (Freedberg et al. 2011, Bowne et al. 2018, Vanek y Glowacki 2019).

2.2. Objetivos e hipótesis

En el presente capítulo se abordan los siguientes objetivos:

- ✓ Determinar si los siguientes parámetros varían entre tortugas de la misma especie que habitan cursos de agua con distinto tipo de disturbio antrópico: (1) prevalencia y severidad de ulceraciones y otros daños en el caparazón, (2) prevalencia y

cobertura algal y prevalencia, abundancia y composición de ensamblajes de zooplankton, 3) índice de condición corporal, y (4) proporción de sexos.

- ✓ Analizar si existe relación significativa entre la condición corporal de los individuos y la presencia de la enfermedad ulcerativa del caparazón dentro de tortugas de la misma especie para cada arroyo analizado.
- ✓ Evaluar si las hembras se ven más afectadas por la enfermedad ulcerativa del caparazón que los machos.
- ✓ Analizar si todos los parámetros arriba mencionados varían significativamente entre especies dentro de un mismo arroyo.

Las hipótesis que se testearán son:

1) La condición sanitaria de las tortugas *H. tectifera* y *P. hilarii*, estimada mediante la presencia de ulceraciones en el caparazón y condición corporal, se relaciona con la calidad del sistema acuático.

Predicción: Las tortugas que habitan cursos de agua altamente degradados presentarán mayor prevalencia y severidad de ulceraciones y otros daños en el caparazón, y peor condición corporal que aquellas provenientes de ambientes menos impactados.

2) La presencia de úlceras en el caparazón afecta la condición corporal de los individuos. Predicción: Los individuos con enfermedad ulcerativa del caparazón tendrán peor condición corporal que los individuos sin úlceras.

3) La enfermedad ulcerativa del caparazón afecta de manera diferencial a los individuos de distintos sexos de una misma especie.

Predicción: La enfermedad ulcerativa del caparazón tendrá mayor gravedad y prevalencia en hembras que en machos.

4) Bajo una misma condición ambiental, la enfermedad ulcerativa del caparazón afecta de manera diferencial a las dos especies estudiadas por la diferente actividad comportamental entre ambas especies.

Predicción: La especie *Hydromedusa tectifera* presentará mayor prevalencia de la enfermedad ulcerativa del caparazón respecto de la especie *Phrynops hilarii*.

2.3. Materiales y métodos

2.3.1. Trabajo de campo

El trabajo de campo se realizó en los meses más cálidos del año (fines de agosto a principios de abril) de los años 2015 a 2021. Se planteó alcanzar un N mínimo de 20 individuos por arroyo por especie. Para los arroyos Buñirigo (sector B2) y Sauce Grande, en que los no pudo completarse el N mínimo para *H. tectifera*, se incorporaron datos de tortugas capturadas por la tesista y el grupo de trabajo en años inmediatos anteriores.

2.3.1.1. Técnicas de muestreo

Para las capturas se empleó una combinación de técnicas dependiendo de las características de cada sitio: espineles sin anzuelo y trampas garlito, complementadas con búsqueda activa diurna y nocturna para captura manual (Fig. 14; para una descripción detallada de cada arte de pesca, esfuerzos en relación al costo/beneficio y posibles sesgos metodológicos ver Semeñiuk et al. (2017)). En general, las artes de pesca permanecieron colocadas desde las 18:00h de un día hasta las 9:00-10:00h de la mañana del día siguiente aproximadamente, cumpliéndose alrededor de 15 horas de trabajo por día de muestreo (exceptuando en el A° Sauce Grande donde las trampas permanecieron colocadas 24h durante 7 de los 14 días de muestreo realizados). La búsqueda activa se realizó generalmente de a dos personas y sin tiempos estandarizados. La Tabla 2 resume el esfuerzo que se empleó en cada tramo de arroyo muestreado.



Figura 14. Técnicas de muestreo: A) Espinel; B) Trampa garlito; C) Búsqueda activa.

Tabla 2. Técnicas de muestreo, número de muestreos y correspondiente esfuerzo (expresado según cada técnica en n° de carnadas, n° de veces que se emplearon las trampas o tiempo de búsqueda activa) para cada tramo muestreado en cada arroyo.

*= tramo final rectificado común a los A° Carnaval y Martín.

**= valores correspondientes al total de muestreos realizados en el marco de esta tesis junto con los realizados en los años inmediatos anteriores.

Arroyo	Tramo	Muestreos	Técnica de muestreo	Esfuerzo
Carnaval	Medio	17	Espinel	655 carnadas
Martín	Medio	9	Búsqueda activa (nocturna)	1h/1 persona
			Espinel	200 carnadas
Canal Villa Elisa *	Final	3	Búsqueda activa (diurna y nocturna)	7,5h/1-2 personas
			Espinel	170 carnadas
Rodríguez	Medio	7	Espinel	150 carnadas
	Final	6	Búsqueda activa (diurna)	7h/2 personas
El Gato	Medio	10	Espinel	630 carnadas
			Trampa garlito	2
			Búsqueda activa (diurna)	5,5h/2 personas
Tubichamini	Final	5	Espinel	120 carnadas
	Nacientes	9	Espinel	380 carnadas
Buñirigo**	Medio	4	Espinel	760 carnadas
	Final	2	Espinel	350 carnadas
	B1	15	Trampa garlito	2
	B2	15	Espinel	330 carnadas
Sauce Grande**	Cuenca alta	14	Espinel	980 carnadas
			Trampa garlito	7
			Búsqueda activa (diurna)	8h/2 personas
Tanti	Medio	3	Espinel	2020 carnadas
			Búsqueda activa (diurna y nocturna)	7
Toro Muerto	Medio	3	Búsqueda activa (diurna y nocturna)	16h/2 personas
			Búsqueda activa (diurna y nocturna)	8h/3 personas
			Búsqueda activa (diurna y nocturna)	8h/3 personas

2.3.1.2. Registro de datos y obtención de muestras

Para cada tortuga de cada especie capturada se registraron las siguientes variables:

- Longitud Recta del Caparazón (LRC): distancia recta entre el borde anterior de la placa nugal (*P. hilarii*) o primer par de marginales (*H. tectifera*) y el borde posterior de las placas supracaudales del espaldar (caparazón dorsal).
- Peso “sucio”: peso del individuo al momento de su captura previo a remover el material orgánico (epibiontes) e inorgánico (sedimento) que pueda estar adherido a su caparazón.
- Peso “limpio”: peso posterior a la remoción total de epibiontes y sedimento del caparazón.
- Sexo: en base a caracteres dimórficos como presencia de concavidad plastral, cola más larga y abertura cloacal más alejada del borde caparacial en los machos (Cabrera 1998). En los juveniles, en los que estas características no son tan evidentes como en los adultos, el sexo se determinó por eversión del pene (Rodrigues et al. 2014).

Por otro lado, de cada individuo se obtuvo:

- una muestra o la totalidad (criterios detallados en la sección 1.2.3. D) de la fracción animal del epibiontes del caparazón, la cual se removió mediante pinzas y espátulas y se conservó en etanol 70° para su posterior determinación y cuantificación bajo lupa.
- fotografías en vistas dorsal y ventral tanto antes como después de la remoción del epibiontes, con una medida de referencia conocida (para su posterior análisis) y empleando una cámara fotográfica Nikon Coolpix S2900.

Todos los procedimientos mencionados fueron realizados a campo previo a la liberación de cada ejemplar en el sitio donde fue capturado. Con el fin de evitar repeticiones y a la vez realizar seguimiento de individuos, cada tortuga fue marcada con muescas en las placas marginales del caparazón según el sistema propuesto por Cagle (1939). En los A° Tanti y Toro Muerto (provincia de Córdoba), donde se realizó una única campaña de tres días de duración por arroyo, las tortugas fueron marcadas temporalmente con tinta al agua para

no causar distorsión sobre las marcas realizadas por otros investigadores que pudieran estar trabajando con tortugas en esa zona.

2.3.1.3. Parámetros físico químicos

En cada arroyo se tomaron *in situ* una serie de variables físico-químicas que fueron utilizadas para la descripción de cada arroyo:

- pH
- oxígeno disuelto (mg/l)
- conductividad (S/m)
- temperatura (°C) del agua y el aire

Se utilizó un medidor multiparámetro manual (Lutron WA-2015). Esta tarea se realizó generalmente una vez por muestreo en cada sitio de estudio.

La Figura 15 sintetiza los procedimientos realizados durante el registro de datos en el campo.

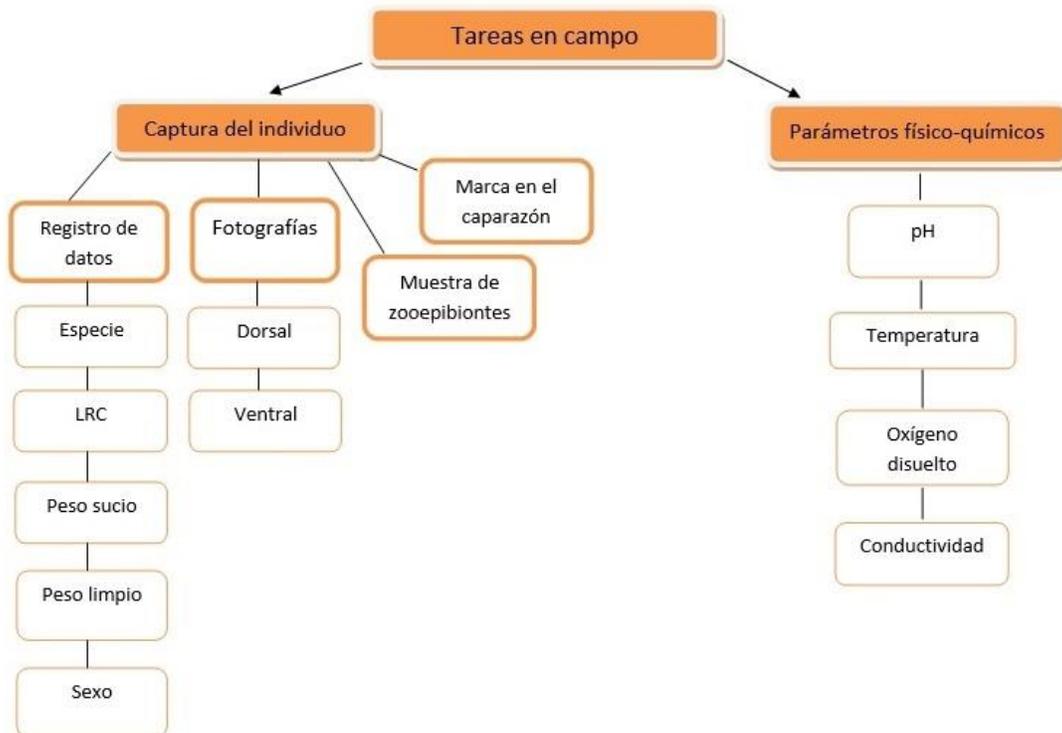


Figura 15. Metodología en campo.

2.3.2. Índices y variables de estado sanitario

Con los datos, las muestras y el material fotográfico obtenidos en el campo se procedió al cálculo de las siguientes variables.

2.3.2.1. Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

Para estimar la extensión y gravedad de las ulceraciones presentes en el caparazón de las tortugas se adoptó (con modificaciones) el sistema de cuantificación descrito por Hernández-Divers et al. (2009) denominado Puntaje Total de Enfermedad del Caparazón (PTEC), traducido del inglés Total Shell Disease Score. Este sistema consiste en dividir el caparazón en regiones asignándole un valor a cada una de acuerdo al tipo de lesiones que presenta. El valor total del puntaje para cada individuo resulta de la sumatoria de los valores de todas las regiones. Para obtener el valor de cada región se suman los valores de todas las lesiones que presenta, que a su vez resultan del producto de su severidad por su extensión (detallado más adelante).

En el presente estudio se dividió al caparazón en dos regiones: dorsal, correspondiente al área total del espaldar, y ventral, correspondiente al área total del plastrón.

Las categorías de severidad se modificaron de acuerdo a las lesiones que presentaron las tortugas de las muestras obtenidas para la presente tesis.

Valores para la categoría Extensión:

- 0= sin lesiones
- 1= menor, área de lesión que ocupa menos del 10% de la región.
- 2= moderada, área de lesión que ocupa entre 10% y 50% de la región.
- 3= amplia, área de lesión que ocupa más del 50% de la región.

Valores para la categoría Severidad:

- 0= sin lesiones
- 1= úlcera tipo I, superficial: generalmente de forma circular, hay debilidad y/o desprendimiento de queratina acompañado o no de enrojecimiento de las placas corneas (Fig. 16A).

- 2= úlcera tipo II, intermedia: generalmente de contorno circular bien definido, a veces enrojecido, la queratina se desprende y la capa ósea subyacente se encuentra afectada parcial o totalmente con presencia de tejido necrosado a su alrededor (Fig. 16B).
- 3= úlcera tipo III, profunda: la lesión se extiende por el caparazón de forma irregular y, por lo general, la infección alcanza la totalidad del tejido óseo del área afectada (Fig. 16C).

El área ocupada por cada lesión se midió a partir de las fotografías dorsal y ventral de cada individuo empleando el software Image J (versión 1.52). Para estimar la extensión de cada lesión se calculó el porcentaje de la región ocupada por cada una respecto al área total del caparazón correspondiente (dorsal o ventral).

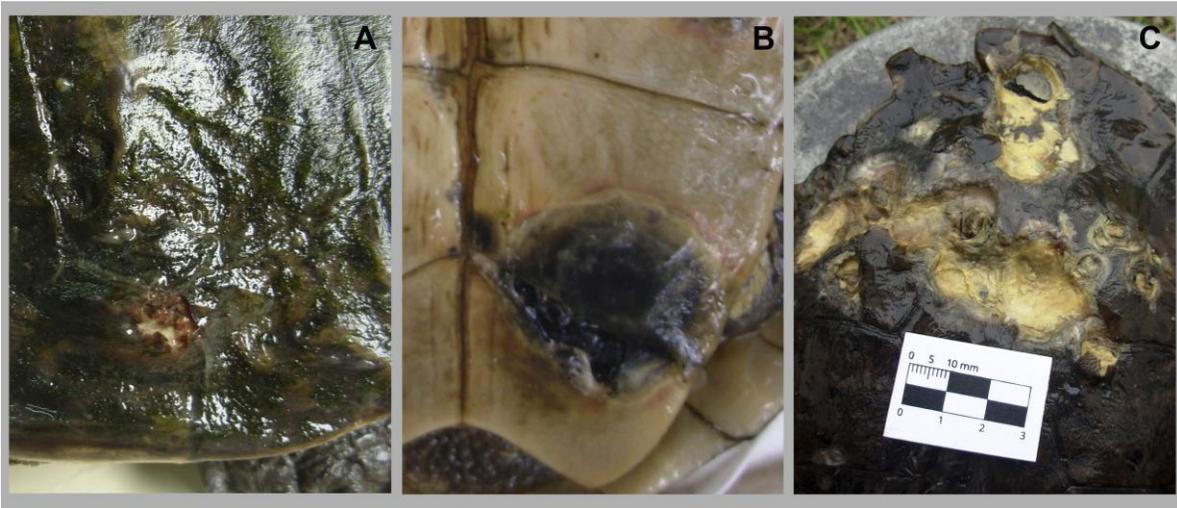


Figura 16. Tipos de úlceras según severidad: A) Úlcera I; B) Úlcera II; C) Úlcera III.

Combinando los posibles valores que puede tomar una lesión (producto de severidad por extensión) y considerando que cada región puede presentar los tres tipos de severidad sin que puedan coexistir dos tipos de lesiones con una extensión superior al 50 %, se determinó que el puntaje total por región podría alcanzar un máximo de 15. Por esta razón el máximo posible del PTEC por individuo nunca superaría el valor de 30.

Por otro lado, durante los muestreos realizados en el marco de esta tesis y de otros estudios paralelos, se hallaron cinco¹ tortugas de la especie *H. tectifera* en muy mal estado general evidenciado, en todos los casos, por letargia, poca capacidad de movimiento en los miembros, falta de respuesta a estímulos externos y ulceraciones en su caparazón, esto último de marcada severidad en cuatro de los cinco ejemplares (el restante presentaba numerosas cicatrices y algunas ulceraciones pequeñas). Todas, a excepción de una, fueron encontradas en las márgenes del cauce fuera del agua, algo muy infrecuente en esta especie como se mencionó antes. Las mismas fueron capturadas y mantenidas en piletas de lona de 2000l con vegetación acuática y provistas de sitios para asoleo aéreo para observar su posterior evolución. Todas murieron entre los 8 y 45 días posteriores a su captura. Se calculó el valor del PTEC para cada uno de estos individuos, obteniendo valores máximos de 11 y 12. Por consiguiente, si bien el PTEC puede tomar valores superiores (hasta 30), se consideró el valor más alto obtenido durante el estudio como valor máximo para generar un Índice de Ulceración del Caparazón (IUC). Este índice categoriza el grado de ulceración de cada individuo en el marco de los datos reales en lugar de los posibles, teniendo en cuenta que con dicho valor (o incluso con uno menor) cuatro individuos murieron. Estas categorías son:

- 0= ulceración ausente
- 1-4= menor
- 5-8= moderado
- 9-12= alto

2.3.2.2. Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

Además de las ulceraciones, el caparazón de cada tortuga se evaluó detalladamente para detectar la presencia de otro tipo de daños que puedan estar reflejando la condición del

¹ Tres de estos ejemplares se emplearon exclusivamente para el armado del IUC, excluyéndose de los análisis correspondientes a la población de cada arroyo dado que: dos de estos individuos fueron hallados en el A° Rodríguez con posterioridad a haber completado el N para tal arroyo; el restante fue encontrado en un sitio que no forma parte del área de estudio de esta tesis, el Canal Muñiz (ciudad de Lobos, Pcia. de Buenos Aires), un curso de agua urbano con alto nivel de contaminación microbiológica producto de vertidos residuales sin tratamiento adecuado (<https://www.Fmreencuentro.com.ar/informe-tecnico-canal-salgado-analisis-de-calidad-de-agua>).

ambiente y constituir zonas propicias para el posterior desarrollo de lesiones ulcerosas. Estos daños no ulcerosos se clasificaron como:

- Daño en queratina: lesión que afectan la capa externa de queratina, con forma irregular. La ausencia de queratina puede ser parcial o más profunda, por lo que queda expuesta la capa ósea del caparazón. No hay necrosis en el tejido circundante (Fig. 17A).
- Ausencia de parte del caparazón: porción faltante de caparazón, en la mayoría de los casos en zonas de borde (Fig. 17B).
- Cicatriz: comúnmente de forma circular, aunque también puede tener otras formas menos definidas, superficie irregular, a veces con coloración diferente al resto del caparazón. (Fig. 17C). En algunos casos podrían representar úlceras u otras lesiones severas ya curadas.

Para estimar el área ocupada por cada lesión, se siguió la misma metodología empleada para el cálculo de las ulceraciones, por medio del software Image J (versión 1.52), y se relacionó al área del caparazón correspondiente (dorsal, ventral y/o total) obteniéndose un valor porcentual para cada lesión.

En base a los distintos tipos de lesiones que puede presentar el caparazón de las tortugas (úlceras, daño en queratina, ausencia de parte de caparazón, falta de hueso), se calculó un Índice de Importancia Relativa (IIR), similar al empleado en estudios dietarios, para estimar el aporte de cada tipo de lesión al estado general del caparazón. En este caso la fórmula original (Pinkas et al. 1971) fue modificada para obtener valores comprendidos entre 1 y 100, siendo los valores cercanos a 100 los de mayor importancia relativa (de manera similar a Bjorndal et al. 1997), de la siguiente manera:

$$IIR = 100 \cdot (F_i \cdot (N_i + A_i)) / \sum (F_i \cdot (N_i + A_i)),$$

donde F_i representa la frecuencia de ocurrencia porcentual de la lesión i , N_i la frecuencia numérica porcentual de la lesión i , y A_i el área porcentual ocupada por la lesión i .

Para cada especie en cada arroyo, el IIR fue calculado separadamente para el caparazón dorsal y ventral, y en forma conjunta para el caparazón total.

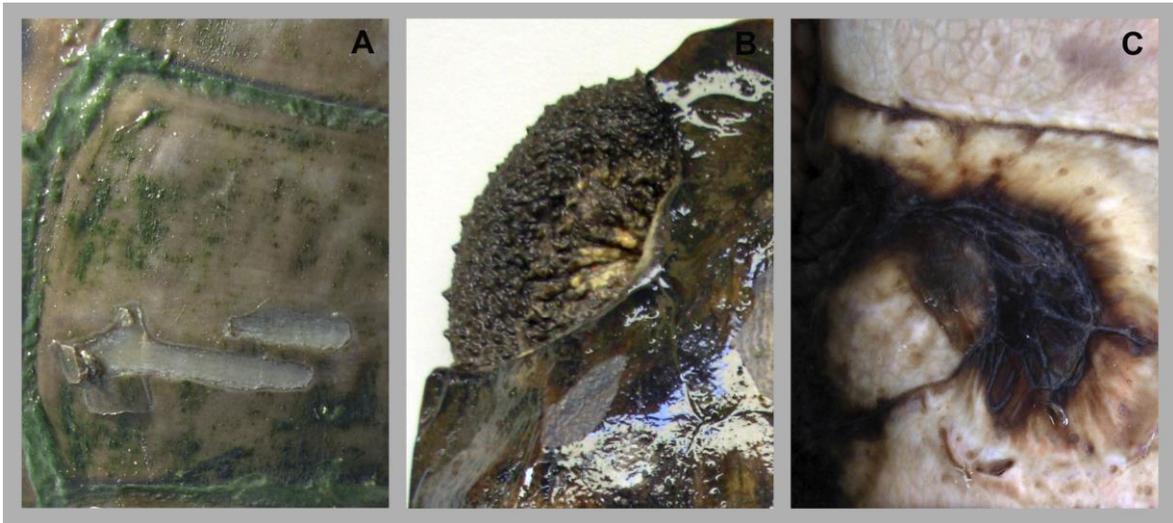


Figura 17. Tipos de lesiones no ulcerosas en el caparazón: A) Daño en queratina; B) Ausencia de parte del caparazón; C) Cicatriz.

2.3.3.3. Índice de Condición Corporal (ICC)

Para cada especie en cada arroyo se calculó una recta de regresión lineal por mínimos cuadrados entre el peso (P) y la longitud recta del caparazón (LRC), transformando ambas variables a logaritmo para asegurar los supuestos de la regresión. El residuo entre el valor de P teórico esperado y el valor de P obtenido para cada individuo representa su valor del ICC, una variable continua capaz de ser comparada según las unidades de análisis de interés. Se ha argumentado que dichos residuos proveen la manera más apropiada de separar los efectos de la condición de los efectos del tamaño corporal (Schulte-Hostedde et al. 2005).

2.3.3.4. Epibiontes

Las fracciones vegetal y animal de epibiontes fueron analizadas de manera separada. De la primera se estimó la cobertura algal sobre el espaldar (y eventualmente también en áreas del plastrón) de cada tortuga a partir de las fotografías dorsal y ventral: en la mayor parte de los casos se siguió un procedimiento similar al de cuantificación de lesiones, también empleando el software Image J (versión 1.52); en algunos pocos casos en los que se dificultó medir la cobertura por medio del mencionado programa (por la disposición compleja de la

trama algal o por baja calidad de las fotografías), la estimación se realizó de manera visual. Luego cada individuo fue clasificado en cinco categorías de acuerdo al porcentaje de cobertura: 0= sin algas; 1= <25 %; 2= 25,1-50 %; 3= 50,1-75 %; y 4= >75 %.

En cuanto a la fracción animal, la composición de los ensambles se determinó bajo lupa binocular (Nikon SMZ745T) consultando bibliografía específica y, eventualmente, a colegas especialistas. Para estimar la abundancia de cada uno de los taxones, se realizó un conteo total de los individuos, a excepción de los temnocéfalos para los cuales se siguieron dos procedimientos alternativos: (a) en tortugas con baja cobertura fueron removidos y cuantificados en forma total (Fig. 18A), o (b) en casos de cobertura alta, se tomó una muestra dentro de un área delimitada por un aro de 3 cm², se cuantificó el número de individuos de la misma y se extrapoló esa cantidad al área total cubierta por temnocéfalos (mediante análisis de fotografías con el software mencionado; Fig. 18B). Los temnocéfalos fueron cuantificados considerando huevos y adultos como unidades individuales.



Figura 18. Cobertura de epibiontes; A) baja; B) alta. El círculo indica el área de la muestra tomada.

Separadamente por especie, en cada arroyo se calculó el Índice de Importancia Relativa (IIR) para cada taxón animal de epibiontes siguiendo la fórmula:

$$IIR = 100 \cdot (F_i \cdot (N_i + V_i)) / \sum (F_i \cdot (N_i + V_i))$$

donde F_i representa la frecuencia de ocurrencia porcentual del taxón i , N_i la frecuencia numérica porcentual del taxón i , y V_i el volumen porcentual ocupado por el taxón i . Como se mencionó en la sección anterior, la fórmula de Pinkas et al. (1971) fue modificada de manera de obtener valores de IIR entre 0 y 100: los grupos taxonómicos de mayor importancia relativa son los que resultan con valores cercanos a 100 siendo de menor importancia los cercanos al valor 0.

2.3.3.5. Proporción de sexos

A partir de los datos del sexo de los individuos (según caracteres dimórficos y el método de eversión del pene, como se describió previamente) se calculó la proporción entre machos y hembras correspondiente, excluyendo a unos pocos juveniles muy pequeños cuyo sexo no pudo ser determinado. Para los casos del A° Tubichamini y el sector B2 del A° Buñirigo se utilizaron para este análisis el total de datos disponibles de ambas especies que fueron obtenidos por el grupo de trabajo en los años inmediatos anteriores a la presente tesis (excediendo el N utilizado para el resto de los análisis), con el fin de obtener un resultado más confiable acerca de la proporción de sexos en esos arroyos.

2.3.3. Análisis estadísticos

Para todas las variables se evaluaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad y, en los casos en que éstos no se cumplieron, se procedió a la transformación de los datos o bien a su análisis mediante estadística no paramétrica, según se detalla más adelante.

Para cada especie en cada arroyo se evaluó:

- 1) Asociación entre presencia de úlceras y sexo por medio del test Chi cuadrado (χ^2), con corrección de Yates.
- 2) Diferencias en el ICC entre machos y hembras, y entre individuos con y sin ulceraciones en el caparazón por medio de dos pruebas t.

- 3) Desviación de la relación observada machos/hembras respecto de la esperada (1/1) mediante el test χ^2 .

Por otro lado, se comparó cada especie entre arroyos por medio de una serie de Análisis de la Varianza no paramétrica de una vía (Kruskal-Wallis) empleando en cada caso “arroyo” como factor y una de las siguientes variables como variable dependiente: valor de PTEC, valor de área de caparazón (porcentual) de cada tipo de lesión de caparazón (daño en queratina, ausencia de parte del caparazón, cicatriz), ICC (discriminado por sexo por arroyo y total por arroyo) y cobertura de algas.

Por otro lado, se comparó el valor de PTEC globalmente (por especie total) entre sexos por medios del test no paramétrico para comparación de dos medias (Mann-Whitney U), y la asociación entre presencia de úlceras y sexo (por especie total) fue analizada por medio del test χ^2 .

Además, se empleó el test no paramétrico ANOSIM (Análisis de Similitud de una vía) para verificar diferencias significativas en la abundancia de los distintos grupos taxonómicos presentes en el zooepibiontes de las tortugas de los distintos arroyos, para cada especie. Este análisis calcula un estadístico R que varía entre 0 (similitud máxima) y 1 (disimilitud máxima; Clarke y Warwick 2001). Posteriormente, para los casos en los que se observaron mayores diferencias entre ensambles, se determinó cuáles taxones contribuyeron con la disimilitud por medio del análisis SIMPER (Similitud porcentual). Se tomó como corte el 85 % de contribución acumulada, por lo que se consideró a los taxones que quedaron incluidos debajo de tal valor como los de mayor contribución a la disimilitud entre los ensambles. Para ambos análisis (ANOSIM y SIMPER), la abundancia de cada taxón fue previamente transformada a logaritmo de $(x + 1)$, con el fin de reducir el efecto de los taxones más abundantes, y se empleó el índice de similitud de Bray Curtis.

Por otra parte, para las comparaciones entre especies se realizaron los siguientes análisis:

- 1) Los tipos de lesión no ulcerosa del caparazón (daño en queratina, ausencia de parte del caparazón y cicatriz) fueron comparadas separadamente entre especie por arroyo empleando la prueba no paramétrica para comparación de dos muestras (test Mann-Whitney U) considerando en cada caso “especie” como factor y el área

de caparazón (porcentual) ocupada por cada uno de los tipos de lesión del caparazón como variable dependiente.

- 2) Con el mismo procedimiento estadístico, se comparó el ICC global (sin discriminar por arroyos) entre especies tomando “especie” como factor e ICC como variable dependiente
- 3) Se evaluó si las variables presencia de algas sobre el caparazón y cobertura algal tienen asociación (cada una por separado) con la variable especie por medio del test χ^2 .

Por último, se realizó una comparación entre arroyos en base a las *H. tectifera* utilizando las variables sanitarias con resultados más contrastantes entre poblaciones a través de un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) basado en una matriz de similitud (índice de similitud de Sorensen). Se emplearon las variables presencia/ausencia de úlceras en el caparazón y presencia/ausencia de temnocéfalos, excluyendo del análisis las tortugas con doble ausencia (sin úlceras y sin epibiontes).

En todos los análisis el nivel de significancia fue $p < 0,05$. Los análisis se realizaron utilizando los softwares InfoStat (versión 2020; Di Rienzo et al. 2020), SigmaPlot (versión 14.5) y Primer (versión 6).

2.4. Resultados

Los resultados se presentan ordenados en tres apartados según la unidad de análisis: (i) ambas especies por arroyo (Apartado 2.4.1), (ii) misma especie comparada entre arroyos (Apartado 2.4.2), y (iii) ambas especies comparadas en la totalidad de los arroyos (Apartado 2.4.3.). Por último, en el apartado 2.4.4. se muestran los resultados del análisis multidimensional no métrico para *H. tectifera*.

2.4.1. Resultados para ambas especies por curso de agua

2.4.1.1. A° Carnaval, A° Martín y desembocadura común (Canal Villa Elisa)

En los 17 muestreos realizados en el tramo medio del A° Carnaval se capturaron 21 tortugas de la especie *H. tectifera* (14 machos y 7 hembras), superando el N mínimo propuesto inicialmente, mientras que en el tramo medio correspondiente al A° Martín (9 muestreos) se

logró capturar 20 individuos de la misma especie (16 machos y 4 hembras). Otras 4 *H. tectifera* (1 macho y 3 hembras) fueron obtenidas en el Canal Villa Elisa (desembocadura común a ambos arroyos), las cuales no se considerarán en los siguientes análisis correspondientes a cada uno de los arroyos por separado. Respecto a la especie *P. hilarii*, solo se capturó un ejemplar en el tramo medio del A° Carnaval, y ninguno en el Canal Villa Elisa, donde se esperaba capturar ejemplares de la especie.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la muestra de *H. tectifera* correspondiente al A° Carnaval (N=21), casi la mitad de los individuos (43 %) estuvo dentro de la categoría de ulceración del caparazón “menor”, mientras que un 5 % obtuvo la categoría “moderado” (Fig. 19). El máximo valor de PTEC obtenido para la muestra total del A° Carnaval fue de 5.

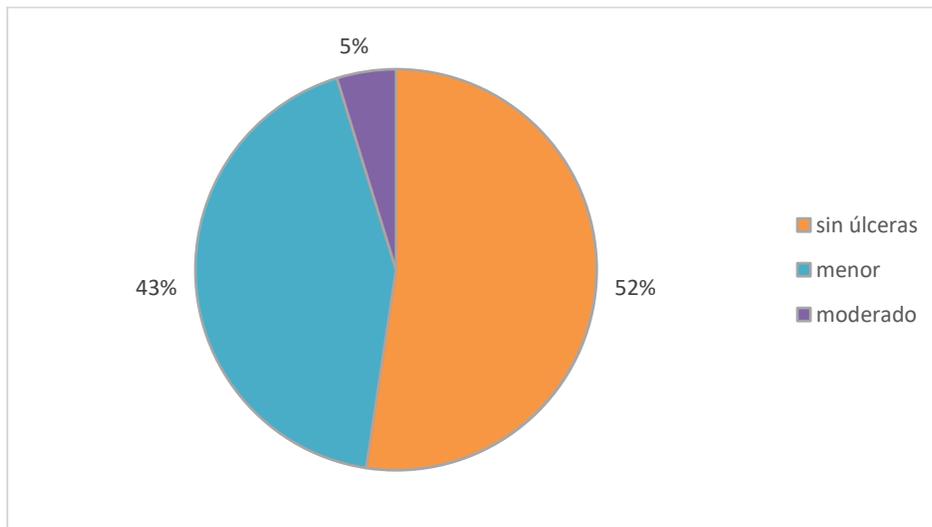


Figura 19. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Carnaval.

Cuando los datos fueron discriminados por sexo, se pudo observar que la mitad de los machos presentó ulceraciones en el caparazón, de manera similar que para las hembras (Tabla 3). El análisis de asociación entre presencia de úlceras y sexo, por su parte, no arrojó

diferencias significativas ($X^2= 0,02$; $p< 0,87$; $gl= 1$) por lo que se descarta relación entre sexo y grado de ulceración del caparazón en este arroyo.

Tabla 3. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° Carnaval según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	menor	moderado	Total
M	7	7	0	14
H	4	2	1	7
Total	11	9	1	21

La única tortuga de la especie *P. hilarii* hallada en el A° Carnaval no presentó ulceraciones en el caparazón.

De la muestra de *H. tectifera* correspondiente al A° Martín (N=20), la mayoría de los individuos no presentó úlceras en el caparazón (70 %) y el resto estuvo distribuido entre las categorías “menor”, “moderado” y “alto” (Fig. 20), siendo el máximo valor de PTEC obtenido para la muestra total igual a 12.

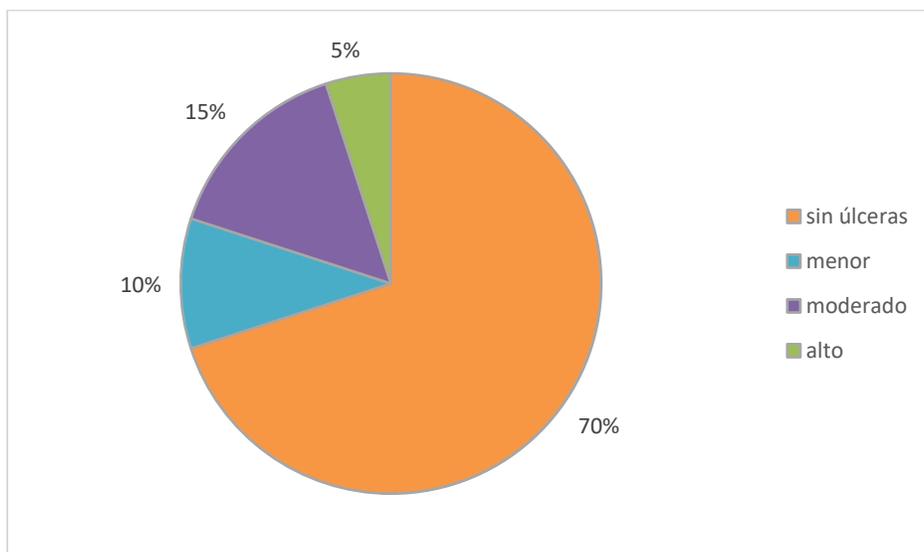


Figura 20. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Martín.

Al discriminar los datos por sexo, se obtuvo que la mayoría de los machos no tuvieron ulceraciones mientras que 3 de un total de 4 hembras presentaron algún grado de ulceración caparacial (Tabla 4). El análisis de asociación entre presencia de úlceras y sexo resultó no significativo ($X^2= 2,51$; $p< 0,11$; $gl= 1$), por lo que en este arroyo tampoco existiría relación entre sexo y grado de ulceración del caparazón.

Tabla 4. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° Martín según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	menor	moderado	alto	Total
M	13	3	0	0	16
H	1	1	1	1	4
Total	14	2	3	1	20

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

De la muestra de *H. tectifera* del A° Carnaval, el tipo de lesión que tuvo la máxima prevalencia fue “Daño en queratina” (100 %), seguido por “Cicatriz” (76,2 %); las restantes categorías tuvieron una prevalencia similar entre sí que rondó el 50 % (Fig. 21). El IIR arrojó los mismos resultados en cuanto a la importancia relativa de los distintos tipos de lesión en el caparazón, tanto para el caparazón dorsal como para el ventral, siendo el de mayor contribución “Daño en queratina” (Tabla 5).

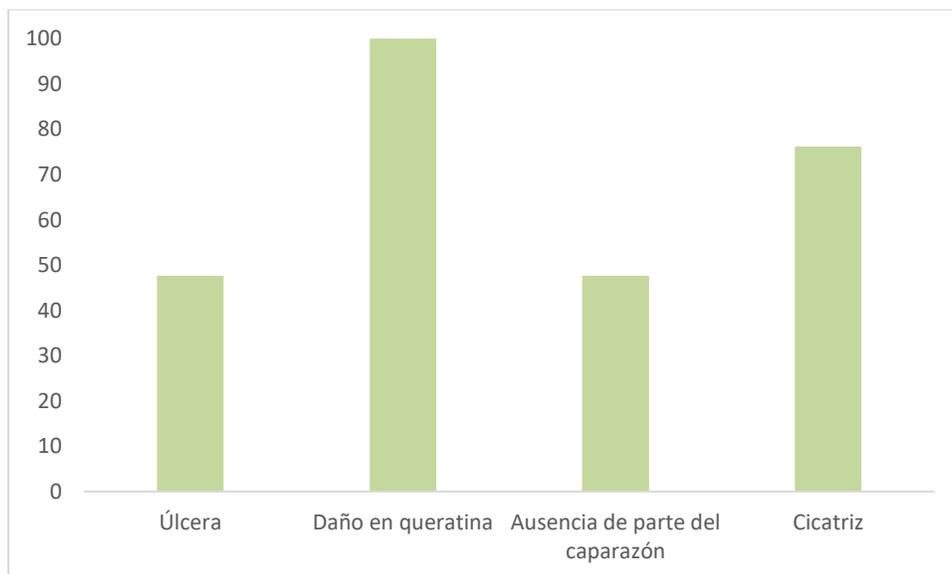


Figura 21. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Carnaval por tipo de lesión.

Tabla 5. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Carnaval calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
Úlcera	6,39	11,63	8,24
Daño en queratina	60,34	58,23	57,96
Ausencia de parte del caparazón	10,39	9,22	8,71
Cicatriz	22,88	20,93	25,10

Respecto a la muestra correspondiente al A° Martín, el tipo de daño de mayor prevalencia también fue “Daño en queratina” (75 %), seguido por “Cicatriz” y, por último, las categorías “Úlcera” y “Ausencia de parte del caparazón”, ambas con una prevalencia del 30% (Fig. 22). El IIR, por su parte, arrojó que el tipo de lesión de mayor importancia para el caparazón dorsal fue “Daño en queratina” (69,88), mientras que para el caparazón ventral fue “Cicatriz” (52,18), similarmente que para el IIR total (Tabla 6).

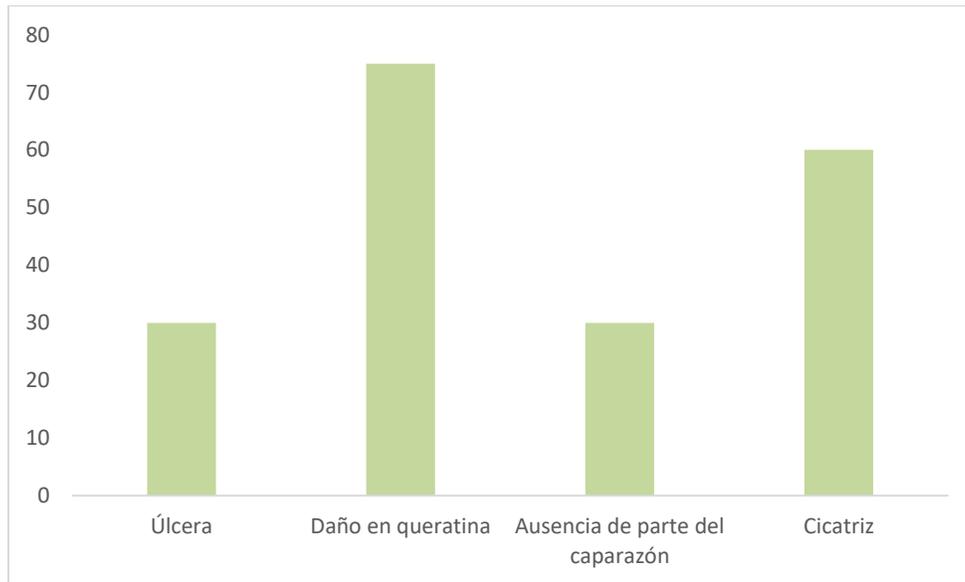


Figura 22. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Martín por tipo de lesión.

Tabla 6. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Martín calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
Úlcera	6,42	14,96	12,48
Daño en queratina	69,88	30,32	37,03
Ausencia de parte del caparazón	9,68	2,53	4,71
Cicatriz	14,01	52,18	45,78

C) Índice de Condición Corporal

Para la muestra de *H. tectifera* del A° Carnaval se obtuvieron valores medios de LRC y peso de 210,5mm y 1044,3g, respectivamente (Tabla 7). La fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC obtenida fue: $\log P = -2,62 + 2,42 \cdot \log LRC$ (Fig. 23), mientras que el valor medio de los ICC (residuos obtenidos entre el valor de peso real y el valor esperado según la regresión) para la muestra total de la especie en este arroyo fue igual a 0 (+/- 0,05; Tabla 7).

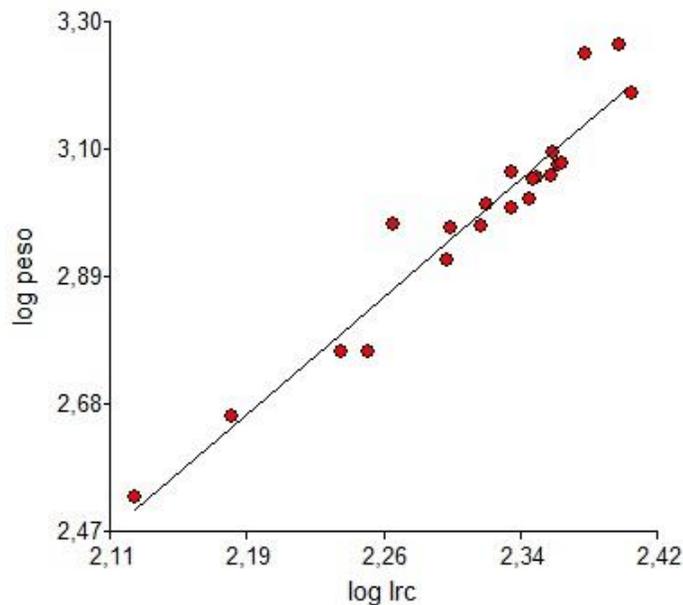


Figura 23. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Carnaval (n= 21).

Discriminando los datos por sexo, el valor medio del ICC fue negativo para los machos (por lo que, en promedio, el peso fue inferior al esperado para la talla) mientras que para las hembras el ICC fue positivo (promedio del peso superior al esperado para la talla; Tabla 7). A su vez, el ICC resultó significativamente diferente entre sexos ($t= 2,51$; $p= 0,04$; $gl= 7$). Por otro lado, no se obtuvieron diferencias significativas en el ICC entre tortugas con y sin ulceraciones en el caparazón ($t= 0,06$; $p= 0,95$; $gl= 19$).

Tabla 7. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas de *H. tectifera* del A° Carnaval discriminada por sexo.

		Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
Total (n= 21)	LRC	210,5 (31)	132	255,5
	P	1044,3 (380)	340	1850
	ICC	0 (0,05)	-0,07	0,12
Machos (n= 14)	LRC	210,5 (28)	150	255,5
	P	979,9 (292)	458	1534
	ICC	-0,02 (0,02)	-0,07	0,02
Hembras (n= 7)	LRC	210,6 (40)	132	251
	P	1173 (517)	340	1850
	ICC	0,04 (0,06)	-0,04	0,12

En cuanto al A° Martín, los valores medios correspondientes a la LRC y el peso fueron de 213,4mm y 1180g, respectivamente (Tabla 8). La fórmula correspondiente a la regresión entre el log del peso y el log de LRC fue: $\log P= -3,79 + 2,93 \cdot \log LRC$ (Fig. 24), y el valor medio de los ICC para la muestra total de la especie en este arroyo fue igual a $5 \text{ E-}4$ ($\pm 0,06$; Tabla 8). Los machos obtuvieron un valor medio de ICC negativo mientras para las hembras fue positivo, siendo además el ICC significativamente diferente entre ambos sexos ($t= 2,11$; $p<0,04$; $gl= 18$). Por otro lado, la media del ICC resultó positivo para las tortugas ulceradas (0,06) y negativo para las no ulceradas (-0,02), resultando a su vez significativamente diferente entre si ($t= -3,27$; $p<0,004$; $gl= 18$).

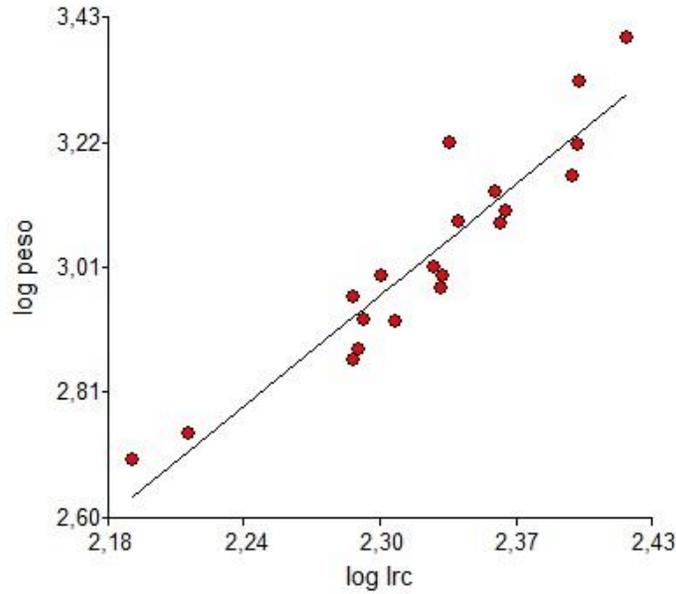


Figura 24. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Martín (n= 20).

Tabla 8. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas de *H. tectifera* del A° Martín discriminada por sexo.

		Media (± DE)	Mínimo	Máximo
Total	LRC	213,4 (27)	154	261
(n= 20)	P	1180 (506)	493	2492
	ICC	5 E-4 (0,06)	-0,07	0,16
Machos	LRC	213 (21)	163,5	247,7
(n= 16)	P	1103,7 (327)	547	1663
	ICC	-0,01 (0,06)	-0,07	0,16
Hembras	LRC	215 (49)	154	261
(n= 4)	P	1484,2 (966)	493	2492
	ICC	0,06 (0,05)	-0,02	0,09

D) Epibiontes

De la muestra de 21 individuos de *H. tectifera* del A° Carnaval, poco más de la mitad (52,38 %) presentó algas sobre el espaldar. La mayoría de ellas estuvo dividida entre las categorías de menor cobertura (valor 1: 23,81 %) y mayor cobertura (valor 4: 19,05 %), mientras que las categorías de cobertura intermedia (valores 2 y 3) tuvieron bajas frecuencias relativas (4,76 % cada una). La única tortuga de *P. hiliarii* obtenida en este arroyo presentó algas sobre el caparazón, con la categoría de menor cobertura (1).

En lo que respecta a la fracción animal de epibiontes, ésta estuvo compuesta por platelmintos del género *Temnocephala* (huevos y adultos), nematodos de vida libre, anélidos acuáticos (clases Hirudinea y Oligochaeta), crustáceos del Orden Amphipoda (*Hyaella* sp.), gasterópodos acuáticos adultos de las Familias Ancyliidae y Viviparidae (*Sinotaia quadrata*) y una puesta de huevos de un gasterópodo no determinado. Los resultados del IIR sobre la fauna de epibiontes arrojaron que el grupo de mayor importancia fueron los huevos de temnocéfalos, seguido de los adultos (la suma de ambos fue mayor a 90), mientras que los restantes grupos obtuvieron valores significativamente menores (Tabla 9).

La única tortuga de *P. hiliarii* capturada en este arroyo también presentó huevos de temnocéfalos como único componente del zooepibiontes en su caparazón, aunque con baja abundancia.

Tabla 9. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zooepibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Carnaval. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
<i>Temnocephala</i> sp. (huevos)	85,5	90,48	51,00	73
<i>Temnocephala</i> sp.(adultos)	13,7	76,19	34,98	21,94
Hirudinea	0,4	66,67	12,03	4,88
Nematoda	0,4	38,10	0,19	0,13
Gasteropoda (<i>Sinotaia quadrata</i>)	0,0008	4,76	0,95	0,03
Oligochaeta	0,002	9,52	0,19	0,01
Huevos Gasteropoda	0,004	4,76	0,47	0,01
Gasteropoda Ancyliidae	0,003	14,29	0,00	0,0002
Amphipoda (<i>Hyaella</i> sp.)	0,001	4,76	0,00	0,00002

En cuanto a la muestra de 20 individuos del A° Martín, el 50 % presentó algas sobre el caparazón dorsal, de las cuales el 25% estuvo dentro de la categoría de menor cobertura. El porcentaje restante se distribuyó principalmente entre los valores 3 y 4 (10% cada uno), mientras que el valor 2 obtuvo el menor porcentaje (5 %).

El ensamble del zoopibiontes, por su parte, estuvo compuesto por platelmintos del género *Temnocephala* (huevos e individuos adultos), anélidos (clases Hirudinea y Oligochaeta), nematodos de vida libre, larvas de dípteros de la familia Chironomidae y crustáceos copépodos. Los resultados del IIR concluyeron que el grupo de los adultos de *Temnocephala* fue el de mayor importancia para el ensamble, mientras que los demás componentes obtuvieron valores inferiores (huevos de temnocéfalos) o muy inferiores (Tabla 10).

Tabla 10. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Martín. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
<i>Temnocephala</i> sp. (adultos)	80,2	35	93,30	80,36
<i>Temnocephala</i> sp. (huevos)	19,4	55	4,53	17,39
Hirudinea	0,3	80	1,68	2,12
Chironomidae (larvas)	0,05	25	0,12	0,06
Nematoda	0,02	20	0,12	0,04
Oligochaeta	0,01	15	0,12	0,03
Copepoda	0,002	5	0,12	0,01

E) Proporción de sexos

A pesar de que la proporción de sexos estuvo sesgada hacia los machos en ambos arroyos, éste sesgo fue significativo solo para el A° Martín donde cuatro de cada cinco tortugas fueron machos ($\chi^2= 7,2$; $p< 0,007$; $gl= 1$) mientras que en el A° Carnaval la proporción observada (2:1) no resultó significativamente diferente del valor 1:1 esperado ($\chi^2= 2,33$; $p< 0,12$; $gl= 1$).

2.4.1.2. A° Rodríguez

En los 13 muestreos que se realizaron en los tramos medio y final del A° Rodríguez se logró superar ampliamente el N mínimo para la especie *H. tectifera*, de la cual se obtuvieron 49 individuos (26 machos y 23 hembras), pero no para *P. hilarii*, de la cual se capturaron 8 tortugas (4 machos y 4 hembras).

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la especie *H. tectifera*, la mayor parte de la muestra (74 %) no presentó ulceraciones en el caparazón; el porcentaje restante se distribuyó entre las categorías de ulceración “menor” (14 %) y “moderado” (12 %; Fig. 25). El máximo valor de PTEC obtenido para la muestra total fue de 8.

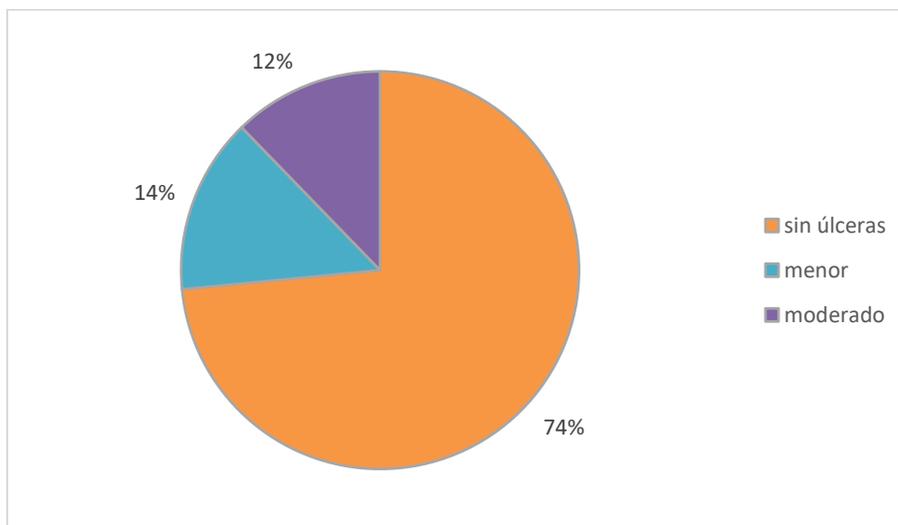


Figura 25. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Rodríguez.

Discriminando los datos por sexo, el número de individuos sanos y con algún grado de ulceración se distribuyó de forma casi equitativa entre machos y hembras (Tabla 11). Dado que el análisis de asociación entre presencia de úlceras y sexo no arrojó diferencias significativas ($\chi^2 = 4,4 \text{ E-}3$; $p < 0,94$; $gl = 1$), no existiría una relación entre sexo y grado de ulceración del caparazón en este arroyo.

Tabla 11. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° Rodríguez según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	menor	moderado	Total
M	19	3	4	26
H	17	4	2	23
Total	36	5	7	49

Respecto a la especie *P. hilarii*, ninguno de los individuos de la muestra para este arroyo presentó ulceraciones en el caparazón por lo que el valor de PTEC obtenido para cada uno de ellos fue 0.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

Para ambas especies de tortugas de este arroyo, la categoría “Daño en queratina” fue la de mayor prevalencia, y en segundo lugar “Cicatriz” y “Ausencia de parte del caparazón” ambas con valores similares entre las especies y entre sí (Fig. 26).

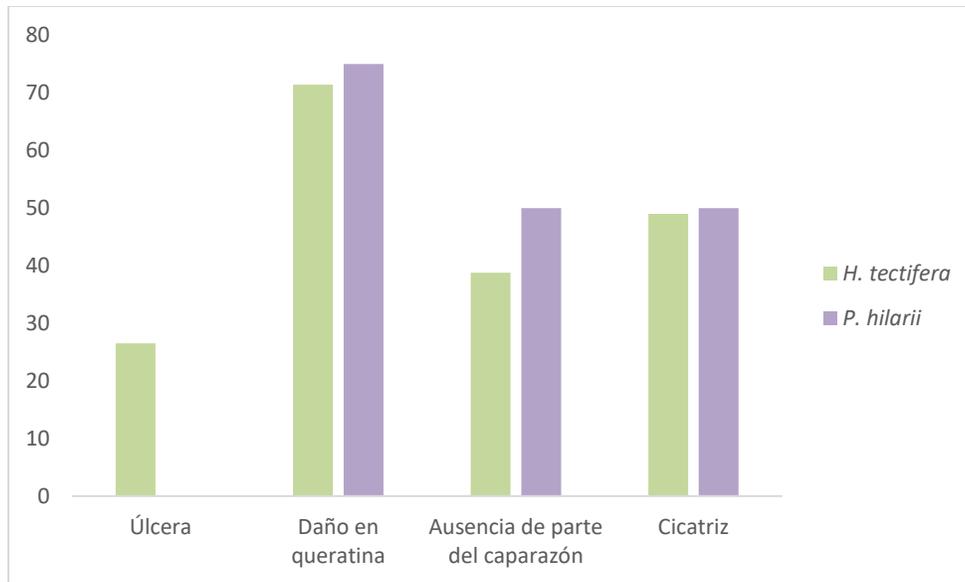


Figura 26. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del A° Rodríguez por tipo de lesión.

El IIR de *H. tectifera* arrojó resultados diferentes entre el caparazón dorsal y el ventral: en el primero las categorías “Cicatriz” y “Daño en queratina” tuvieron los valores más altos y

muy similares entre sí, ocupando la categoría “Ausencia de parte del caparazón” el tercer lugar en importancia, mientras que para el caparazón ventral “Daño en queratina” obtuvo un valor ampliamente mayor al resto (69,79) y el tercer puesto de importancia estuvo ocupado por “Úlcera” (Tabla 12).

Los resultados del IIR también fueron diferentes entre los caparazones dorsal y ventral para la especie *P. hiliarii*, en la cual el primero tuvo como valor más alto a la categoría “Daño en queratina” (42,56), seguido por “Cicatriz” y “Ausencia de parte del caparazón” que tomaron valores muy próximos entre sí; a diferencia del IIR ventral en el cual la categoría “Daño en queratina” obtuvo un valor cercano al máximo para el índice (95,06; Tabla 12) en tanto que el IIR Ventral para “Ausencia de parte del caparazón” y Cicatriz” en ningún caso superó el valor de 3.

Tabla 12. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del A° Rodríguez calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

	Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Úlcera	4,05	11,02	6,10
	Daño en queratina	42,53	69,79	54,87
	Ausencia de parte del caparazón	8,92	2,91	7,33
	Cicatriz	44,51	16,27	31,70
<i>Phrynops hiliarii</i>	Úlcera	0,00	0,00	0,00
	Daño en queratina	42,56	95,06	79,10
	Ausencia de parte del caparazón	28,12	2,90	3,47
	Cicatriz	29,32	2,04	17,43

C) Índice de Condición Corporal

Los valores medios de la LRC y el peso para la población de *H. tectifera* de este arroyo fueron de 187,7mm y 830g, respectivamente (Tabla 13). Se obtuvo la siguiente fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC: $\log P = -3,06 + 2,61 \cdot \log LRC$ (Fig. 27); siendo el valor medio del ICC para la muestra total de la especie igual a $-2 \text{ E-}4$ ($\pm 0,04$; Tabla 13). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo)

mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 13), resultando el ICC significativamente diferente entre los dos sexos ($t= 3,81$; $p= 0,0004$; $gl= 47$). Por otro lado, el ICC no resultó significativamente diferente entre tortugas con caparazón ulcerado y no ulcerado ($t= -1,45$; $p= 0,15$; $gl= 47$).

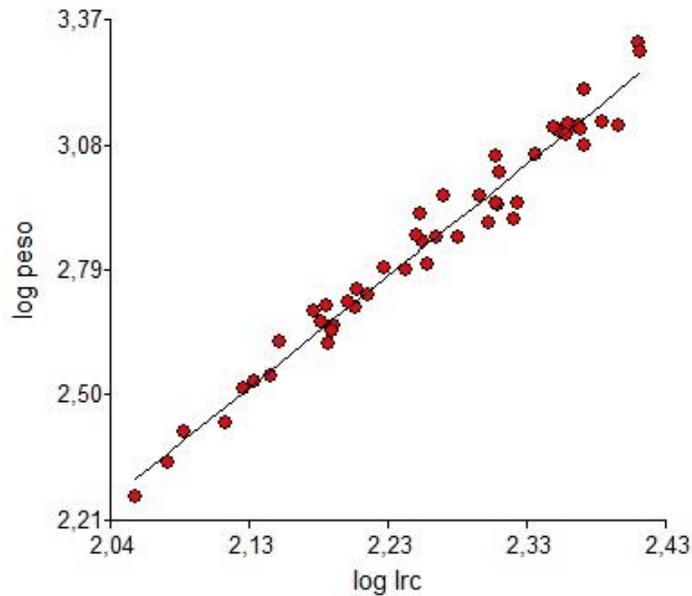


Figura 27. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Rodríguez ($n= 49$).

Por otro lado, los valores medios de LRC y peso para la muestra de *P. hilarii* fueron 256,5mm y 1750g, respectivamente (Tabla 13). La fórmula de regresión entre el log del peso y el log de la LRC fue: $\log P= -3,38 + 2,72 \cdot \log LRC$ (Fig. 28), mientras que el valor medio del ICC para la muestra total de la especie fue 0,001 (+/- 0,05; Tabla 13), siendo el mismo inferior al esperado para la talla en el caso de los machos y superior, en el caso de las hembras. Sin embargo, el ICC no mostró sin diferencias significativas entre sexos ($t= 0,94$; $p= 0,38$; $gl= 6$).

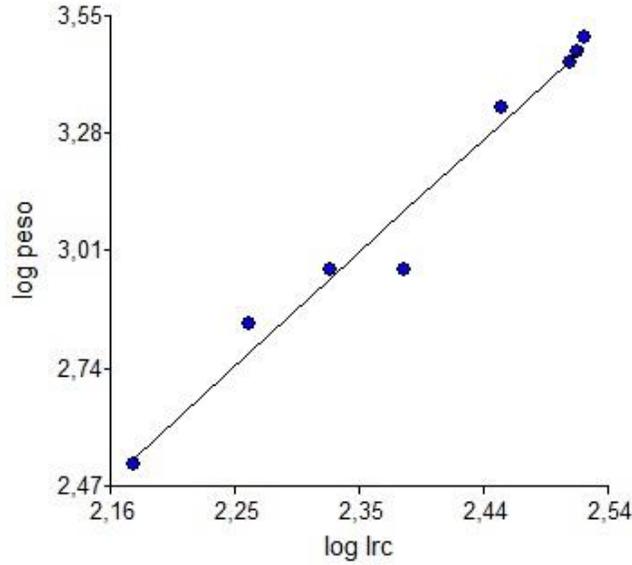


Figura 28. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del A° Rodríguez (n= 8).

Tabla 13. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del A° Rodríguez discriminada por sexo y especie.

			Media (± DE)	Mínimo	Máximo
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Total (n= 49)	LRC	183,8 (43)	88	258,5
		P	801,2 (459)	92	2057
		ICC	-2 E-4 (0,04)	-0,10	0,08
	Machos (n= 26)	LRC	201,8 (30)	153	249,5
		P	909,3 (328)	413	1345
		ICC	-0,02 (0,04)	-0,10	0,08
Hembras (n= 23)	LRC	171,8 (43)	113	258,5	
	P	740,6 (541)	182	2057	
	ICC	0,02 (0,04)	-0,04	0,08	
<i>Phrynops hilarii</i>	Total (n= 8)	LRC	256,5 (71)	149	332
		P	1750 (1150)	331	3180
		ICC	0,001 (0,06)	-0,14	0,07

Machos (n= 4)	LRC	265,2 (49)	211	323
	P	1079,2 (938)	924	2790
	ICC	-0,02 (0,08)	-0,14	0,04
Hembras (n= 4)	LRC	247,7 (95)	149	332
	P	1790,5 (1485)	331	3180
	ICC	0,02 (0,03)	-0,01	0,07

D) Epibiontes

De los 49 individuos de la especie de *H. tectifera* de este arroyo, más de la mitad (57,14 %) no presentó algas sobre su caparazón. Del 42,86 % restante que sí presentó cobertura algal, la mayoría estuvo dentro de la categoría de menor cobertura (valor 1: 18,37 %), mientras que las frecuencias relativas de las coberturas intermedias (valores 2 y 3) fueron iguales a 10,2 % cada una, y la de mayor cobertura (valor 4) obtuvo el menor porcentaje (4,08 %).

Por otro lado, la fracción animal de epibiontes estuvo conformada por hirudíneos, copépodos, anfípodos, larvas y pupas de dípteros de la familia Chironomidae, oligoquetos acuáticos, nematodos de vida libre y gasterópodos acuáticos de la Familia Physidae. Los resultados del IIR arrojaron que el taxón de mayor importancia fue Chironomidae, seguido por anfípodos e hirudíneos (Tabla 14), mientras que el resto de los grupos obtuvieron valores inferiores a 1.

Tabla 14. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Rodríguez. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
Chironomidae (larvas+pupas)	58,97	71,43	33,61	54,34
Amphipoda (<i>Hyalella</i> sp.)	23,42	65,31	26,84	26,97
Hirudinea	16,54	44,90	33,9	18,61
Oligochaeta	0,08	2,04	2,82	0,05
Nematoda	0,08	2,04	0,56	0,01
Gasteropoda Physidae	0,08	1	1,69	0,01
Copepoda	0,08	1	0,56	0,01

En cuanto a la otra especie, *P. hilarii*, solo una de las tortugas de la muestra presentó algas sobre el caparazón dorsal, la cual quedó incluida en la categoría de menor cobertura (1), y en ninguna se observó la presencia de zooepibiontes sobre su caparazón.

E) Proporción de sexos

La proporción de sexos obtenida en este arroyo para *P. hilarii* fue igual a la proporción 1:1 esperada y mínimamente sesgada hacia los machos para *H. tectifera* (1,13:1), sin resultar significativa tal diferencia ($\chi^2=0,18$; $p<0,66$; $gl=1$).

2.4.1.3. A° El Gato

En los 15 muestreos que se llevaron a cabo en los tramos medio y final de este arroyo se superó el N mínimo planteado inicialmente para ambas especies dado que se obtuvieron 27 *H. tectifera* (18 machos y 9 hembras) y 28 *P. hilarii* (21 machos, 5 hembras y 2 juveniles cuyo sexo no pudo ser determinado).

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la especie *H. tectifera*, más de la mitad de la muestra (67 %) no presentó ulceraciones en el caparazón; la categoría de ulceración “menor” fue representada por el 22 % mientras que el porcentaje restante se distribuyó entre las categorías “moderado” y “alto” (Fig. 29). El máximo valor de PTEC obtenido para la muestra total fue de 12.

Al discriminar los datos por sexo, la mayoría de los machos fueron sanos mientras que poco más de la mitad de las hembras presentó algún grado de ulceración (Tabla 15). Sin embargo, el análisis de asociación entre presencia de úlceras y sexo no arrojó diferencias significativas ($\chi^2=1,69$; $p=0,19$; $gl=1$) por lo que no habría una relación entre sexo y grado de ulceración caparacial en este arroyo.

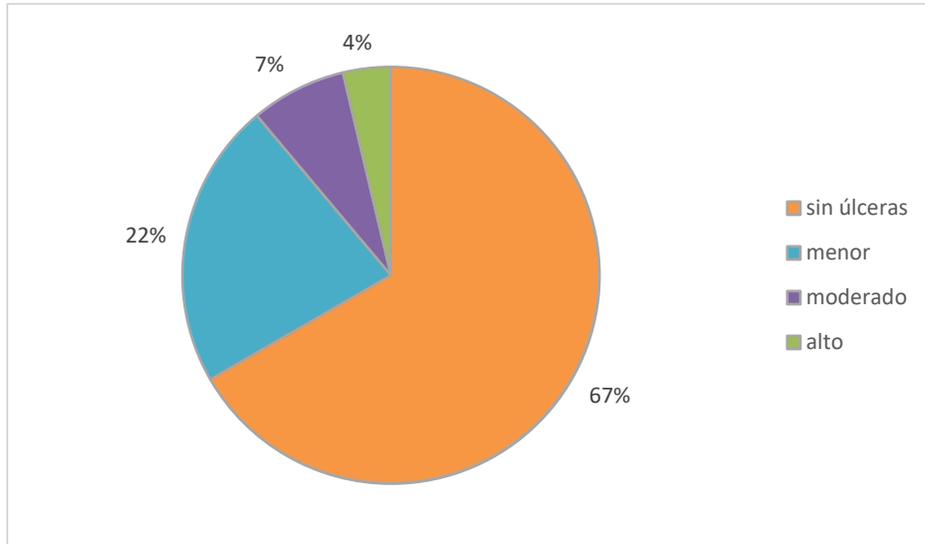


Figura 29. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° El Gato.

Tabla 15. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° El Gato según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	menor	moderado	alto	Total
M	14	3	0	1	18
H	4	3	2	0	9
Total	18	6	2	1	27

En cuanto a la otra especie, *P. hilarii*, ninguno de los individuos presentó ulceraciones en el caparazón. El valor de PTEC para cada uno fue igual a 0.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

Para la muestra de *H. tectifera*, los cuatro tipos de lesión tuvieron una prevalencia similar que rondó el 40 %, siendo la de menor valor la categoría “Úlcera”; mientras que para la especie *P. hilarii* la lesión “Daño en queratina” tuvo una prevalencia alta (cercana al 70 %), siendo muy baja la correspondiente a la otra categoría presente, “Ausencia de parte del Caparazón” (Fig. 30).

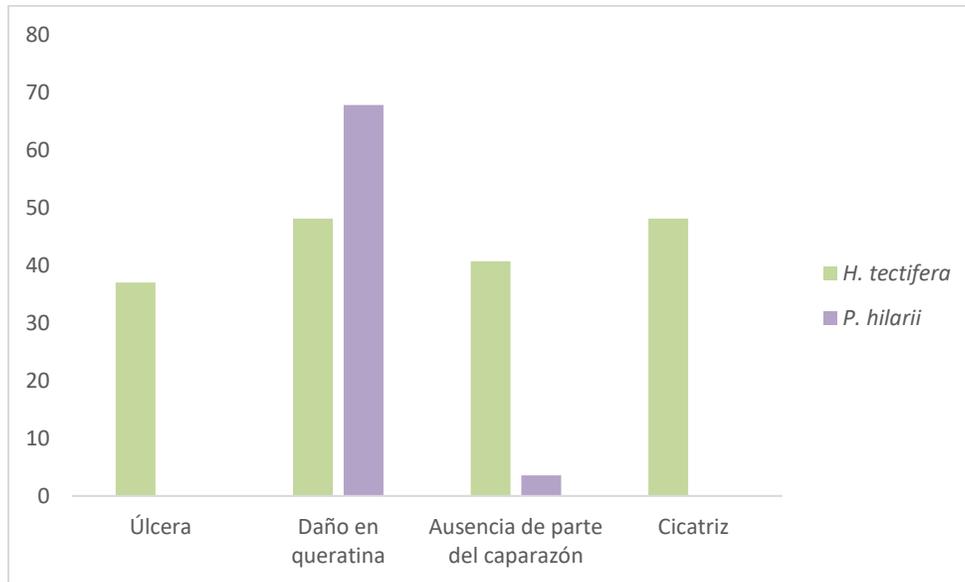


Figura 30. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del A° El Gato por tipo de lesión.

Respecto al IIR para *H. tectifera*, los resultados fueron contrastantes entre los caparazones dorsal y ventral, dado que para el último la categoría “Úlcera” fue la de mayor importancia mientras que para el área dorsal fue “Daño en queratina” (Tabla 16); para el IIR total estas categorías obtuvieron valores muy similares.

En cuanto a la especie *P. hilarii* la única categoría de importancia fue “Daño en queratina” (“Ausencia de parte del caparazón” estuvo presente solo para el área dorsal con un valor muy próximo a 0; Tabla 16).

Tabla 16. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del A° El Gato calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

	Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Úlcera	8,38	58,78	36,16
	Daño en queratina	52,98	23,62	35,60
	Ausencia de parte del caparazón	23,00	5,60	15,29
	Cicatriz	15,64	11,99	12,95
<i>Phrynops hiliarii</i>	Úlcera	0,00	0,00	0,00
	Daño en queratina	99,40	100,00	99,81
	Ausencia de parte del caparazón	0,60	0,00	0,19

Cicatriz	0,00	0,00	0,00
----------	------	------	------

C) Índice de Condición Corporal

Los valores medios de la LRC y el peso para la muestra total de *H. tectifera* de este arroyo fueron de 205mm y 1073,6g, respectivamente (Tabla 17). Se obtuvo la siguiente fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC: $\log P = -3,24 + 2,7 \cdot \log LRC$ (Fig. 31) y el valor medio del ICC para la muestra total de la especie en este arroyo fue igual a $-3 \text{ E-}4$ ($\pm 0,04$; Tabla 17). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 17). El ICC no mostró diferencias significativas entre sexos ($t = 0,15$; $p = 0,87$; $gl = 25$) ni entre tortugas con caparazón ulcerado y no ulcerado ($t = -0,17$; $p = 0,87$; $gl = 25$).

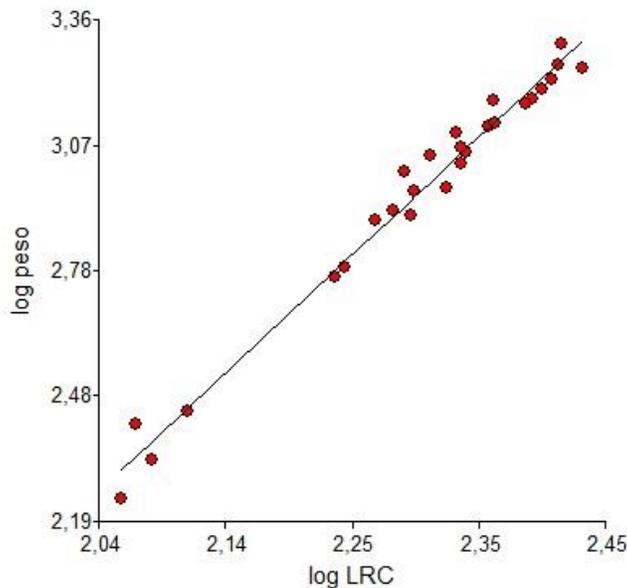


Figura 31. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° El Gato ($n = 27$).

Por otro lado, para población de *P. hiliarii* de este arroyo los valores medios del LRC y peso fueron 252,2mm y 1743,2g (Tabla 17). La regresión entre el log del peso y el log de LRC para la muestra de este arroyo fue $\log p = -2,95 + 2,56 \cdot \log LRC$ (los juveniles se excluyeron de este análisis, Fig. 32); y el valor medio del ICC para la muestra total de la especie en este

arroyo fue 3×10^{-4} (+/- 0,05; Tabla 17), no variando significativamente entre sexos ($t = -0,6$; $p = 0,55$; $gl = 24$).

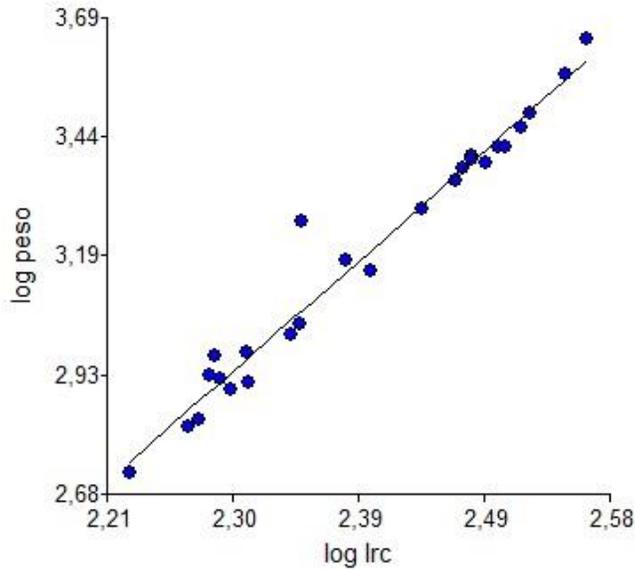


Figura 32. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del A° El Gato ($n = 26$, excluyendo los juveniles).

Tabla 17. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del A° El Gato discriminada por sexo y especie.

			Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Total ($n = 27$)	LRC	205 (44)	115	270
		P	1073,6 (509)	175	2017
		ICC	-3 E-4 (0,04)	-0,07	0,08
	Machos ($n = 18$)	LRC	211,8 (36)	118	270
		P	1112,5 (421)	262	1799
		ICC	-1,2 E-3 (0,04)	-0,06	0,08
	Hembras ($n = 9$)	LRC	191,8 (58)	115	260
		P	995,8 (675)	175	2017
		ICC	1,4 E-3 (0,05)	-0,07	0,06

<i>Phrynops hilarii</i>	Total	LRC	252,2 (60)	169	363,5
	(n= 28)	P	1743,2 (1045)	534	4440
		ICC	3 E-4 (0,05)	-0,05	0,19
		Machos	LRC	270,9 (56)	193
	(n= 21)	P	2046,9 (1027)	804	4440
		ICC	2,8 E-3 (0,05)	-0,05	0,19
		Hembras	LRC	198,7 (28)	169
	(n= 5)	P	872,6 (388)	534	1508
		ICC	-0,01 (0,03)	-0,04	0,03
		Sexo indet.	LRC	189 (1,4)	188
	(n= 2)	P	732 (7,07)	727	737

D) Epibiontes

De las 27 tortugas de *H. tectifera* de este arroyo, poco menos de la mitad de la muestra presentó cobertura de algas sobre el espaldar (48,15 %), de la cual la mayor parte estuvo dentro de la categoría de menor cobertura (valor 1= 22,22 %), seguida por la categoría 2 (14,81 %), la 4 (7,41 %) y, por último, la 3 (3,7 %). En cuanto a los zooepibiontes, los únicos organismos que se observaron sobre el caparazón de las tortugas fueron sanguijuelas, presentes solo en 5 individuos de la muestra (Fo %= 18,51; N= 28; el IIR no fue calculado para esta muestra).

Respecto a la muestra de *P. hilarii*, la gran mayoría de los individuos (86 %) no presentó cobertura de algas en el espaldar mientras que el porcentaje restante quedó comprendido dentro de la categoría de menor cobertura (1). En esta muestra además hubo un porcentaje de tortugas (15 %) que también presentó algas sobre el plastrón, las cuales quedaron incluidas dentro de las categorías de menor cobertura (1 y 2). Ninguna de las tortugas de esta especie presentó organismos animales sobre su caparazón.

E) Proporción de sexos

La proporción de sexos mostró un sesgo hacia los machos en ambas especies, mucho más marcado en *P. hilarii* (4,2:1) que en *H. tectifera* (2:1), siendo significativamente diferente

del valor teórico esperado de 1:1 en la primera ($\chi^2= 9,85$; $p < 0,01$; $gl= 1$) pero no en la segunda ($\chi^2= 3$; $p < 0,08$; $gl= 1$).

2.4.1.4. A° Tubichamini

En los 15 muestreos realizados en distintos sitios a lo largo del recorrido de este arroyo (cabecera, tramo medio y tramo final) se capturaron 25 individuos de *H. tectifera* (19 machos y 6 hembras) y 31 de *P. hilarii* (20 machos y 11 hembras) superando para ambas especies el N mínimo propuesto inicialmente.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la muestra total de 25 individuos de *H. tectifera*, sólo uno de ellos presentó úlceras en el caparazón, cuya categoría de IUC fue “menor” (Fig. 33). El valor correspondiente de PTEC para tal individuo fue igual a 2.

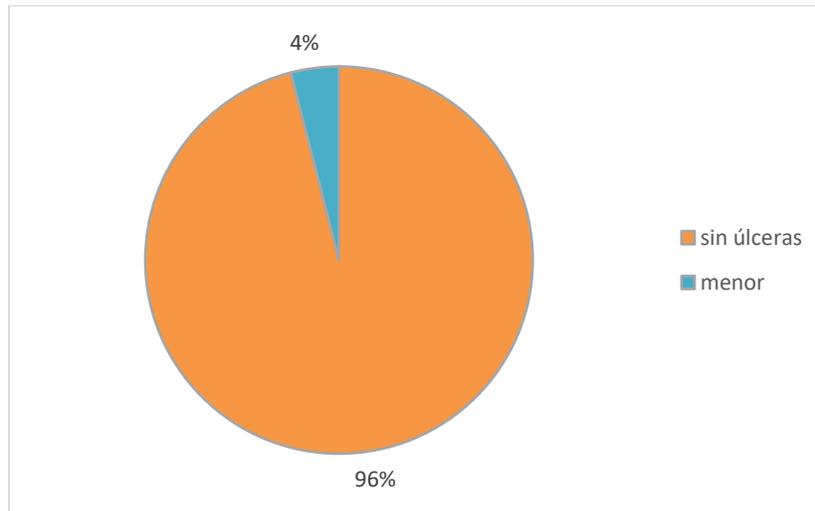


Figura 33. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Tubichamini.

Debido a que un único individuo (macho; Tabla 18) de la muestra presentó úlceras en el caparazón no fue posible realizar un análisis de asociación entre las variables presencia de ulceraciones y sexo, como se realizó en otros arroyos.

Tabla 18. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° Tubichamini según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	moderado	Total
M	18	1	19
H	5	0	5
Total	23	1	24

La muestra correspondiente a la especie *P. hilarii*, por su parte, no contó con ningún individuo ulcerado, por lo que el valor del PTEC para cada individuo fue igual a 0.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

Ambas especies de este arroyo presentaron la categoría “Daño en queratina” con valores de prevalencia superiores al 75 %, seguido por “Ausencia de parte del caparazón” (en *H. tectifera*) y “Cicatriz” (en *P. hilarii*) en ambos casos con valores menores (Fig. 34).

En cuanto al IIR, los resultados obtenidos para caparazón dorsal y ventral en *H. tectifera* fueron similares, siendo “Daño en queratina” el tipo de lesión prevalente en ambos y con valores de IIR ampliamente superiores a las restantes categorías (Tabla 19). Para *P. hilarii*, “Daño en queratina” fue la única lesión de importancia ya que “Cicatriz” estuvo presente solo en el caparazón dorsal y “Ausencia de parte del caparazón” solo en el ventral, ambas con un valor muy bajo (0,99 y 0,2, respectivamente; Tabla 19).

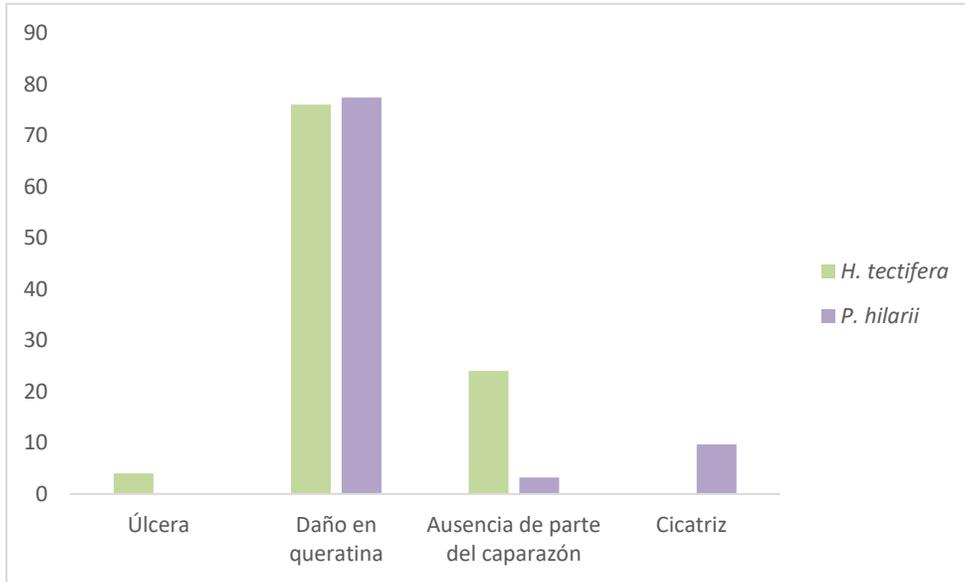


Figura 34. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del A° Tubichamini por tipo de lesión.

Tabla 19. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del A° Tubichamini calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

	Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Úlcera	0,00	0,16	0,05
	Daño en queratina	83,57	87,62	93,36
	Ausencia de parte del caparazón	5,27	5,06	6,59
	Cicatriz	11,16	7,16	0,00
<i>Phrynops hiliarii</i>	Úlcera	0,00	0,00	0,00
	Daño en queratina	99,01	99,80	99,64
	Ausencia de parte del caparazón	0,00	0,20	0,11
	Cicatriz	0,99	0,00	0,25

C) Índice de Condición Corporal

Para la muestra total de *H. tectifera*, la LRC y el peso tuvieron valores medios de 207,5mm y 876,6g, respectivamente (Tabla 20). La fórmula de regresión obtenida entre el log del peso y el log de LRC para la población de *H. tectifera* de este arroyo fue: $\log P = -1,91 + 2,09 \cdot \log LRC$ (Fig. 35); y el valor medio del ICC para la muestra total de la especie en este arroyo fue igual a 0 (+/- 0,08; Tabla 20). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al

esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 20). El ICC no mostró diferencias significativas entre machos y hembras ($t=1,5$; $p=0,15$; $gl=23$).

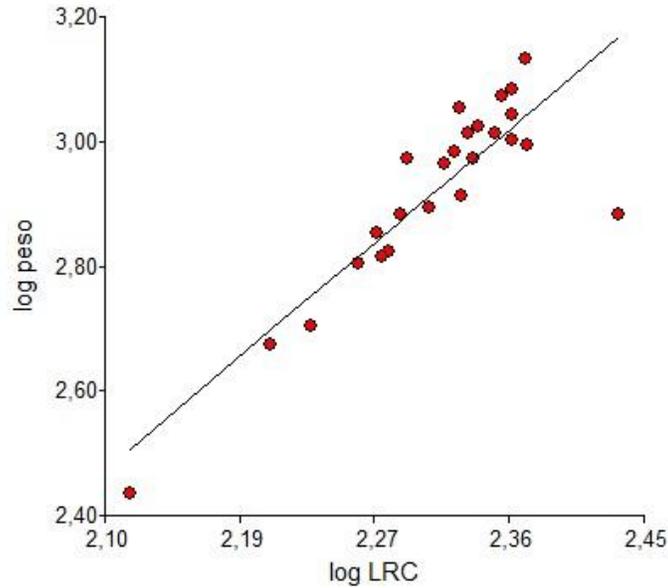


Figura 35. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Tubichamini ($n=25$).

Para el caso de *P. hilarii*, los valores medios correspondientes a la LRC y el peso fueron 192,6mm y 715,8g, respectivamente (Tabla 20). La fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC para la muestra de este arroyo fue $\log P = -3,23 + 2,64 \cdot \log LRC$ (Fig. 36), siendo el valor medio del ICC igual a 3×10^{-4} ($\pm 0,07$; Tabla 20). El ICC no fue significativamente diferente entre sexos ($t=0,66$; $p=0,52$; $gl=29$).

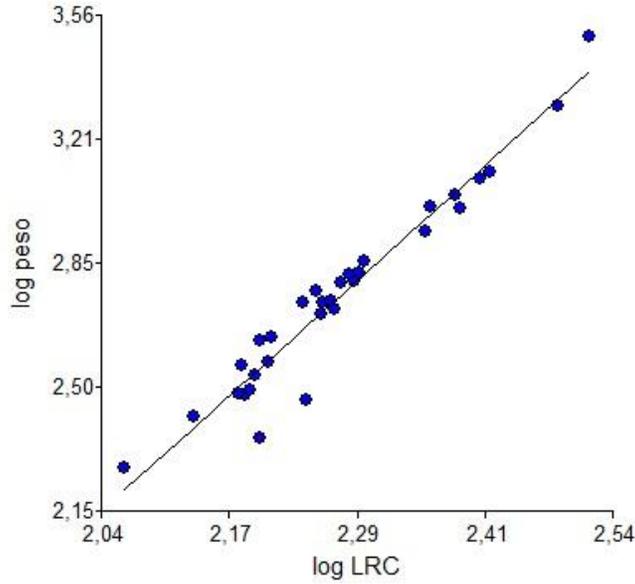


Figura 36. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hiliarii* del A° Tubichamini (n= 31).

Tabla 20. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del A° Tubichamini discriminada por sexo y especie.

			Media (± DE)	Mínimo	Máximo
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Total (n= 25)	LRC	207,5 (28,4)	130	270
		P	867,6 (252)	269	1339
		ICC	0 (0,08)	-0,28	0,10
	Machos (n= 19)	LRC	210 (26)	160,5	270
		P	853,3 (215)	470	1204
		ICC	-0,01 (0,08)	-0,28	0,06
	Hembras (n= 6)	LRC	199,6 (36)	130	235
		P	913,2 (369)	269	1339
		ICC	0,04 (0,07)	-0,07	0,10
<i>Phrynops hiliarii</i>	Total (n= 31)	LRC	192,6 (49)	116	328
		P	715,8 (597)	187	3146
		ICC	3 E-4 (0,07)	-0,21	0,10

Machos (n= 20)	LRC	196,5 (43)	135,5	306
	P	699 (423)	262	2004
	ICC	-0,01 (0,06)	-0,21	0,08
Hembras (n= 11)	LRC	185,4 (60)	116	328
	P	745,9 (853)	187	3146
	ICC	0,01 (0,08)	-0,20	0,10

D) Epibiontes

El 64 % de la muestra de *H. tectifera* de este arroyo presentó algas sobre el caparazón dorsal. La mayor frecuencia relativa fue para la categoría de mayor cobertura (valor 4= 32 %) mientras que los porcentajes para las restantes categorías fueron 12 % (valores 1 y 3) y 8 % (valor 2).

La fracción animal de epibiontes estuvo compuesta por huevos y adultos de temnocéfalos, planarias, nematodos de vida libre, sanguijuelas, gasterópodos acuáticos (adultos Ancyliidae y una puesta de huevos sin determinar), bivalvos, anfípodos, larvas de quironómidos, náyades de efemerópteros y coleópteros acuáticos adultos. Los resultados del IIR determinaron que los temnocéfalos (huevos en primer lugar y adultos en segundo) fueron el único grupo de importancia en la composición de ensamble animal sobre el caparazón de esta especie, mientras que el resto de los taxones obtuvo valores por debajo de 1 (Tabla 21).

Respecto a la muestra de *P. hilarii*, solo un pequeño porcentaje de la misma presentó algas sobre el caparazón dorsal (categoría 1= 6 %), lo mismo que sobre el caparazón ventral (1= 6 %; 2= 3 %). Similarmente, un pequeño porcentaje de la muestra (6,45 %) presentó zooepibiontes, exclusivamente sanguijuelas (N=21), razón por la cual el IIR no fue calculado.

Tabla 21. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zooepibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Tubichamini. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
<i>Temnocephala</i> sp. (huevos)	77,7	92	46	63,24
<i>Temnocephala</i> sp. (adultos)	21,2	88	53,4	36,49

Nematoda	0,9	40	0,026	0,21
Hirudinea	0,2	24	0,232	0,05
Gasteropoda Ancyliidae	0,002	8	0,039	0,002
Planariidae	0,001	4	0,026	0,001
Chironomidae (larvas)	0,001	8	0,026	0,001
Huevos Gasteropoda	0,002	4	0,026	0,001
Coleoptera (adultos)	0,0007	4	0,026	0,001
Ephemeroptera (náyades)	0,0007	4	0,026	0,001
Bivalvia	0,0002	4	0,026	0,001

E) Proporción de sexos

Tal como se mencionó en la sección 2.2.2.E), el N total por especie empleado para este análisis en esta sección del arroyo es superior al utilizado en los restantes análisis, dado que se adicionaron el total de datos obtenidos en años anteriores por el grupo de trabajo. Por ello, para este análisis el N para *H. tectifera* es igual a 52 (18 hembras y 34 machos) y el N de *P. hilarii* es de 46 (15 hembras y 31 machos).

Ambas especies presentaron un sesgo a favor de los machos, algo mayor en *P. hilarii* (2,06:1) que en *H. tectifera* (1,88:1). En ambos casos, tal proporción difirió significativamente del valor 1:1 esperado (*H. tectifera*: $\chi^2= 4,92$; $p < 0,02$; $gl= 1$; *P. hilarii* $\chi^2= 2,94$; $p < 0,02$; $gl= 1$).

2.4.1.5. Sector B1- A° Buñirigo

En este sector del A° Buñirigo se realizaron 15 muestreos en los que se capturaron 11 *H. tectifera* (7 machos y 4 hembras) y 70 *P. hilarii* (31 machos, 33 hembras y 6 juveniles de los que no se pudo determinar el sexo). Por razones de abundancia diferencial entre ambas especies el N mínimo no se alcanzó para *H. tectifera* mientras que se casi cuadruplicó para *P. hilarii*.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la muestra total de 11 tortugas de la especie *H. tectifera*, solo una de ellas (9%) presentó ulceraciones en el caparazón, la cual quedó incluida dentro de la categoría de IUC “moderado” (Fig. 37). El valor correspondiente de PTEC para tal individuo fue igual a 6.

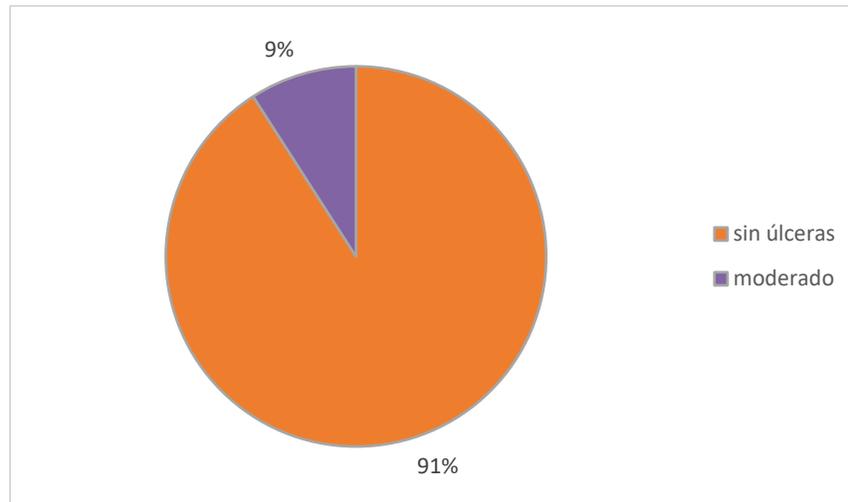


Figura 37. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del sector B1 del A° Buñirigo.

Debido a que un único individuo (macho; Tabla 22) de la muestra presentó úlceras en el caparazón no fue posible realizar un análisis de asociación entre las variables presencia de ulceraciones y sexo.

Tabla 22. Frecuencias observadas de *H. tectifera* de la sección B1 del A° Buñirigo según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	moderado	Total
M	6	1	7
H	4	0	4
Total	10	1	11

En cuanto a la muestra correspondiente a la especie *P. hilarii* ningún individuo tuvo ulceraciones caparaciales, por lo que el valor de PTEC para cada uno fue igual a 0.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

La muestra de *H. tectifera* de este sector del arroyo presentó baja prevalencia de las cuatro categorías de lesión, siendo “Daño en queratina” la lesión con prevalencia más alta (27 %), mientras que ninguna de las otras categorías superó el valor de 10% (Fig. 38). Para el caso

de *P. hilarii* hubo una notable diferencia entre “Daño en queratina” (70%) y las restantes categorías cuya prevalencia nunca alcanzó el 10% (Fig. 38).

En cuanto al IIR en *H. tectifera*, en el caparazón dorsal se verificaron las cuatro categorías de lesión, siendo “Daño en queratina” la de mayor importancia seguido de “Cicatriz”. En el caparazón ventral de la especie se verificó solo “Daño en queratina”, la cual fue ampliamente la de mayor importancia (IIR= 91,86), y “Úlcera” (IIR= 8,14; Tabla 23). En *P. hilarii* se registraron tres de las cuatro lesiones de caparazón (“Úlcera” no estuvo presente) y los resultados del IIR fueron similares entre las áreas dorsal y ventral del caparazón, siendo “Daño en queratina” la única lesión relevante en ambos casos (Tabla 23).

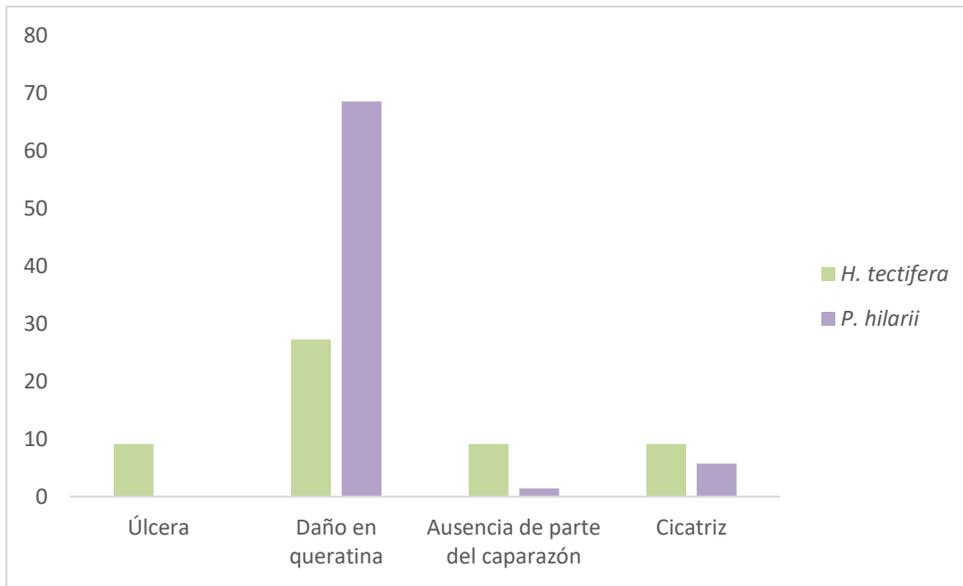


Figura 38. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies de la sección B1 del A° Buñirigo por tipo de lesión.

Tabla 23. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del sector B1 del A° Buñirigo calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

	Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Úlcera	4,13	8,14	5,25
	Daño en queratina	76,04	91,86	79,35
	Ausencia de parte del caparazón	1,48	0,00	0,88

	Cicatriz	18,35	0,00	14,52
<i>Phrynosops hilarii</i>	Úlcera	0,00	0,00	0,00
	Daño en queratina	99,38	99,92	99,48
	Ausencia de parte del caparazón	0,04	0,00	0,03
	Cicatriz	0,57	0,08	0,50

C) Índice de Condición Corporal

Para la población de *H. tectifera* de este sector del arroyo del A° Buñirigo, la LRC tuvo un valor medio de 196,4mm y para el peso la media fue de 843,5g (Tabla 24). A su vez, la fórmula de regresión obtenida entre el log del peso y el log de LRC: $\log P = -2,9 + 2,53 \cdot \log LRC$ (Fig. 39); y el valor medio del ICC para la muestra total de la especie en esta sección fue igual a $-9 \text{ E-}4$ ($\pm 0,03$; Tabla 24). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 24). El ICC no mostró diferencias significativas entre machos y hembras ($t = 1,76$; $p = 0,11$; $gl = 9$).

En cuanto a la especie *P. hilarii*, los valores medios para la muestra de este sector del arroyo correspondientes a la LRC y el peso fueron 184,9 mm y 649,1 g, respectivamente (Tabla 24). La fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC fue $\log P = -3,28 + 2,66 \cdot \log LRC$ (los juveniles fueron excluidos de este análisis; Fig. 40), siendo el valor medio del ICC igual a $3 \text{ E-}4$ ($\pm 0,03$; Tabla 24). Para las hembras el valor medio del ICC fue positivo mientras que para los machos fue negativo. El ICC no fue significativamente diferente entre sexos ($t = 1,48$; $p = 0,14$; $gl = 52$).

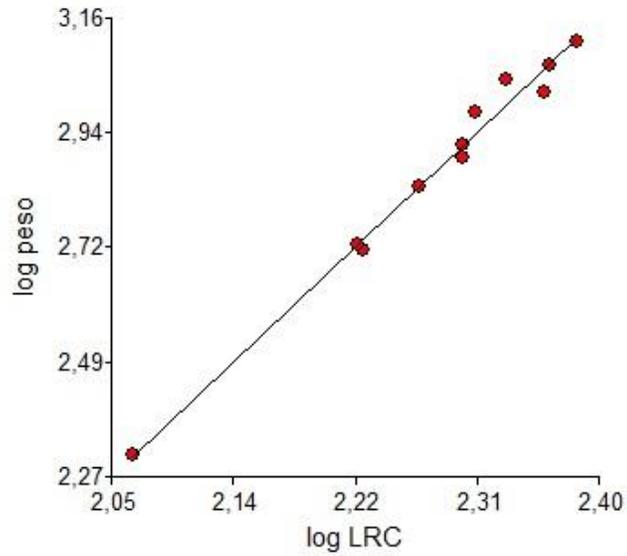


Figura 39. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del sector B1 del A° Buñirigo (n= 11).

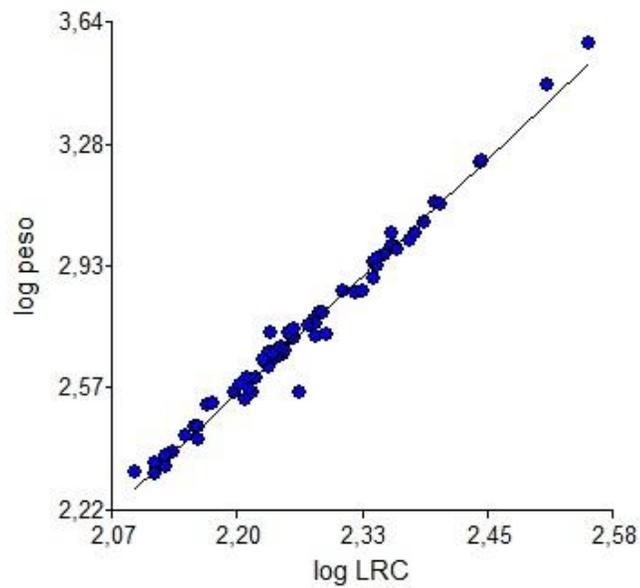


Figura 40. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del sector B1 del A° Buñirigo (n= 64, excluyendo los juveniles).

Tabla 24. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del sector B1 del A° Buñirigo discriminada por sexo y especie.

			Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Total (n= 11)	LRC	196,4 (36)	116	241,5
		P	843,5 (324)	219	1309
		ICC	-9 E-4 (0,03)	-0,05	0,05
	Machos (n= 7)	LRC	203,6 (30)	168	241,5
		P	864,7 (312)	513	1298
		ICC	-0,01 (0,02)	-0,05	3,9 E-3
	Hembras (n= 4)	LRC	183,7 (46)	116	215
		P	757 (390)	206	1097
		ICC	0,02 (0,03)	-0,02	0,05
<i>Phrynops hilarii</i>	Total (n= 70)	LRC	184,9 (48)	107	362
		P	649,1 (575)	122	3770
		ICC	3 E-4 (0,04)	-0,17	0,05
	Machos (n= 31)	LRC	198,9 (44)	133,5	328
		P	737,3 (532)	222	2833
		ICC	-0,01 (0,04)	-0,17	0,06
	Hembras (n= 33)	LRC	183,2 (48)	124	362
		P	643,5 (635)	211	3770
		ICC	0,01 (0,03)	-0,04	0,08
Sexo indet. (n= 6)	LRC	123 (20)	107	160	
	P	224,3 (124)	122	455	

D) Epibiontes

Casi la totalidad de la muestra de la especie *H. tectifera* de este sector del arroyo (90,91 %) presentó algas sobre el caparazón dorsal, principalmente con una cobertura alta (4= 63,64 %) mientras que el porcentaje restante estuvo representado por una cobertura intermedia (2= 27,27 %). Por otro lado, la composición del ensamble de zooepibiontes estuvo

representada por huevos y adultos de temnocéfalos, nematodos de vida libre, sanguijuelas, anfípodos y larvas de quironómidos. Los resultados del IIR arrojaron que el único grupo de importancia para esta especie fueron los temnocéfalos, en primer lugar, los huevos y, en segundo lugar, los adultos (Tabla 25). Los demás grupos del zoopibiontes presentaron valores muy inferiores a 1.

Tabla 25. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del sector B1 del A° Buñirigo. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
<i>Temnocephala</i> sp. (huevos)	86,8	100	59	73,49
<i>Temnocephala</i> sp. (adultos)	11,6	100	40,6	26,28
Nematoda	1,6	27,27	0,1	0,23
Hirudinea	0,001	27,27	0,02	0,003
Chironomidae (larvas)	0,0002	9,09	0,02	0,001
Amphipoda (<i>Hyaella</i> sp.)	0,0002	9,09	0,02	0,001

En lo que refiere a la especie *P. hilarii* de esta parte del arroyo, poco más de la mitad de la muestra (59 %) presentó algas sobre el espaldar con clase de cobertura 1 (49 %) y 2 (10 %). El 26 % de los individuos de la especie también tuvo cobertura de algas en partes del caparazón ventral, en la mayoría de los casos dentro de la clase de cobertura 1 (16 %) pero también en las clases 2 (6 %) y 3 (3 %). Por otro lado, un bajo porcentaje de la muestra presentó zoopibiontes sobre el caparazón (10%), cuyo ensamble estuvo conformado por sanguijuelas y temnocéfalos (huevos y adultos). Los resultados del IIR determinaron que el grupo de mayor importancia fueron las sanguijuelas y en segundo lugar los huevos de temnocéfalos (Tabla 26), mientras que los adultos de la misma familia obtuvieron un valor muy bajo de IIR.

Tabla 26. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados de IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de *P. hilarii* del sector B1 del A° Buñirigo. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
Hirudinea	2,74	10	82,8	63,78
<i>Temnocephala</i> sp. (huevos)	97	4,29	13,9	35,45
<i>Temnocephala</i> sp. (adultos)	0,25	2,86	3,3	0,76

E) Proporción de sexos

La proporción de sexos estuvo sesgada hacia los machos en *H. tectifera* (1,75:1) y hacia las hembras en *P. hilarii* (1:1,06). En ninguna de las dos especies la proporción observada difirió significativamente de la esperada (*H. tectifera*: $\chi^2= 0,81$; $p < 0,36$; $gl= 1$; *P. hilarii*: $\chi^2= 0,06$; $p < 0,8$; $gl= 1$).

2.4.1.6. Sector B2- A° Buñirigo

En este sector del A° Buñirigo se hicieron 15 muestreos y se capturaron 24 *H. tectifera* (16 machos y 8 hembras) y 49 *P. hilarii* (23 machos, 24 hembras y 2 juveniles de los que no se pudo determinar el sexo) pudiéndose superar el N mínimo propuesto inicialmente para ambas especies.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

Del total de 24 individuos obtenidos de *H. tectifera*, poco más de la mitad de la muestra (58 %) no presentó ulceraciones caparaciales, mientras que el porcentaje restante presentó casi en su totalidad úlceras dentro de la categoría “menor” y un pequeño porcentaje con la categoría “alto” (Figura 41). El máximo valor de PTEC para esta especie en este arroyo fue igual a 11. Cuando los datos se discriminaron por sexo, no hubo una tendencia clara de distribución de las categorías de IUC entre los sexos (Tabla 27). Además, el análisis de asociación entre sexo y presencia de úlceras resultó no significativo ($\chi^2= 0,2$; $p= 0,65$; $gl= 1$) por lo que no habría una relación entre sexo y grado de ulceración caparacial en este sector del arroyo.

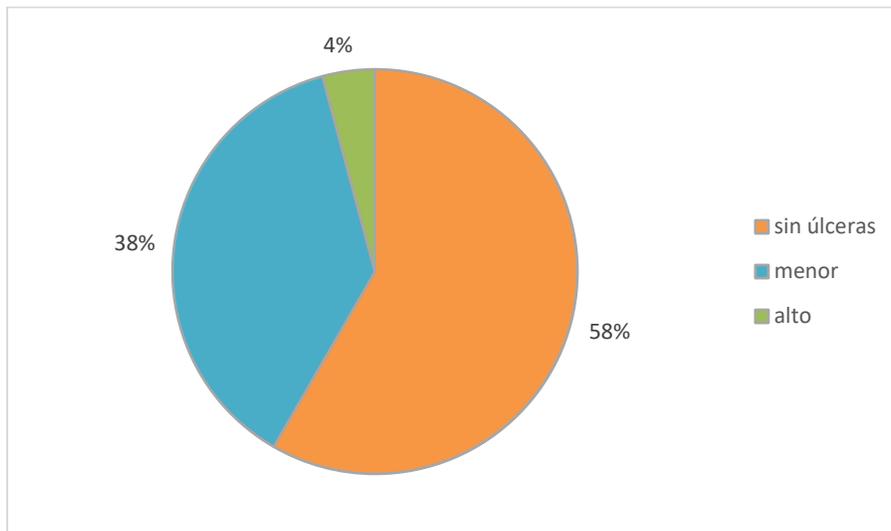


Figura 41. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* de la sección B2 del A° Buñirigo.

Tabla 27. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del sector B2 del A° Buñirigo según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	menor	alto	Total
M	7	9	0	16
H	2	5	1	8
Total	9	14	1	24

En cuanto a la otra especie, *P. hilarii*, ningún individuo presentó ulceraciones en el caparazón.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

Para la muestra de *H. tectifera* de esta sección del arroyo, la mayoría de las categorías (excepto “Úlcera”) tuvieron una prevalencia alta, superior al 50 %, siendo la mayor “Daño en queratina” (Fig. 42). Para la especie *P. hilarii*, esta categoría también fue la de mayor prevalencia, mientras que el resto de las categorías obtuvieron valores considerablemente menores (Fig. 42).

En cuanto al IIR de lesiones de *H. tectifera* los resultados fueron contrastantes entre las áreas dorsal y ventral del caparazón: dorsalmente la categoría “Cicatriz” fue la de mayor importancia mientras que ventralmente “Daño en queratina” presentó un valor marcadamente mayor a los restantes (Tabla 28). Respecto a la especie *P. hilarii*, en cambio, “Daño en queratina” fue la lesión de mayor importancia para ambas partes del caparazón, mientras que el resto de las categorías tomaron valores bajos (menores a 6; Tabla 28).

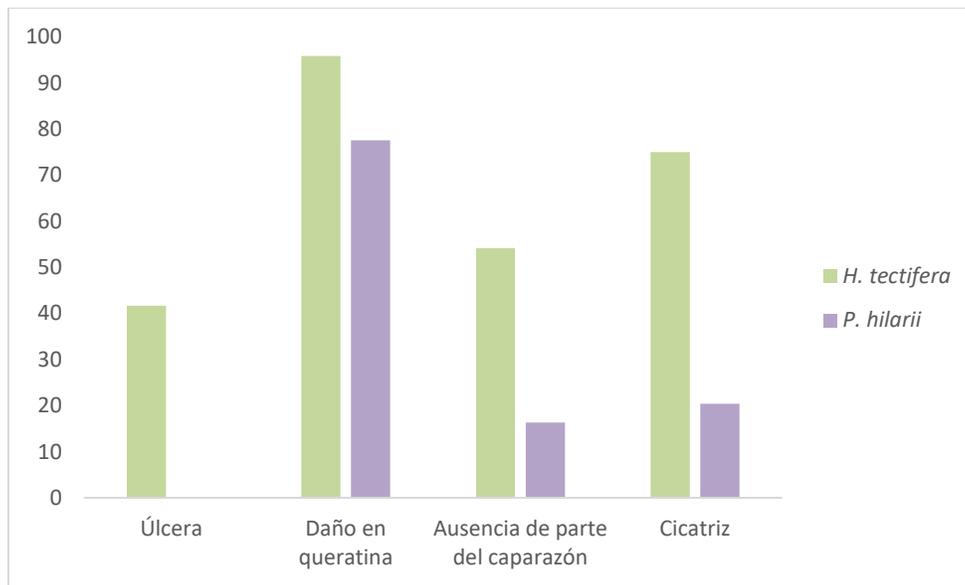


Figura 42. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del sector B2 del A° Buñirigo por tipo de lesión.

Tabla 28. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del sector B2 del A° Buñirigo calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

	Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Úlcera	5,57	6,85	9,29
	Daño en queratina	26,51	71,74	42,24
	Ausencia de parte del caparazón	20,34	15,42	19,04
	Cicatriz	47,57	6,00	29,43
<i>Phrynops hilarii</i>	Úlcera	0,00	0,00	0,00
	Daño en queratina	93,33	98,59	94,18
	Ausencia de parte del caparazón	5,42	1,03	4,67
	Cicatriz	1,25	0,38	1,16

C) Índice de Condición Corporal

Para la muestra total de *H. tectifera* de esta parte del arroyo, la LRC tuvo un valor medio de 210,4mm y para el peso la media fue de 976,3g (Tabla 29). Se obtuvo la siguiente fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC: $\log P = -2,65 + 2,42 \cdot \log LRC$ (Fig. 43); siendo el valor medio del ICC para la muestra total de la especie en este sector del arroyo igual a 0 (+/- 0,04; Tabla 29). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 29). Además, el ICC mostró diferencias significativas entre machos y hembras ($t = 2,19$; $p = 0,03$; $gl = 22$). Por otra parte, no se obtuvieron diferencias significativas en el ICC entre tortugas ulceradas y no ulceradas ($t = 0,04$; $p = 0,97$; $gl = 22$).

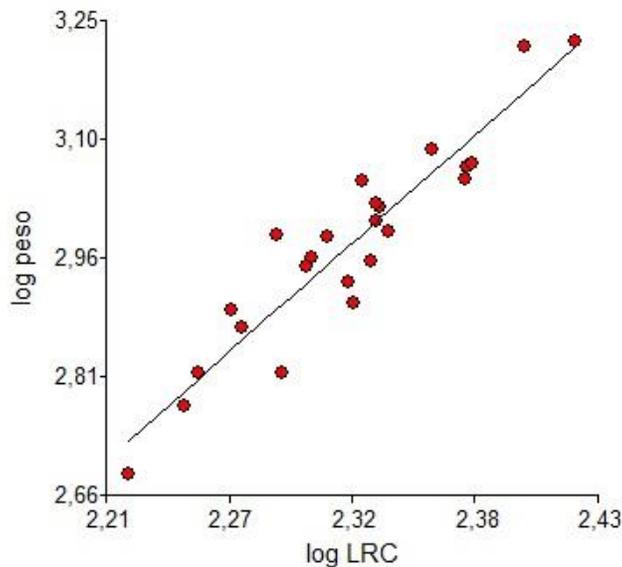


Figura 43. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del sector B2 del A° Buñirigo (n= 24).

En cuanto a *P. hilarii*, los valores medios correspondientes a la LRC y el peso fueron 255mm y 1641,2g, respectivamente (Tabla 29). La fórmula de regresión entre el log del peso y el log de LRC obtenida para la muestra de esta sección del arroyo fue $\log P = -2,31 + 2,27 \cdot \log LRC$ (se excluyó a los juveniles del análisis; Fig. 44), siendo el valor medio del ICC igual a $-8 \text{ E-}4$ (+/- 0,09; Tabla 29). Para los machos la media del ICC fue menor que el esperado para la

talla, contrario a las hembras cuya media de ICC resultó positiva. Sin embargo, el ICC no varió significativamente entre sexos ($t= 0,85$; $p= 0,4$; $gl= 45$).

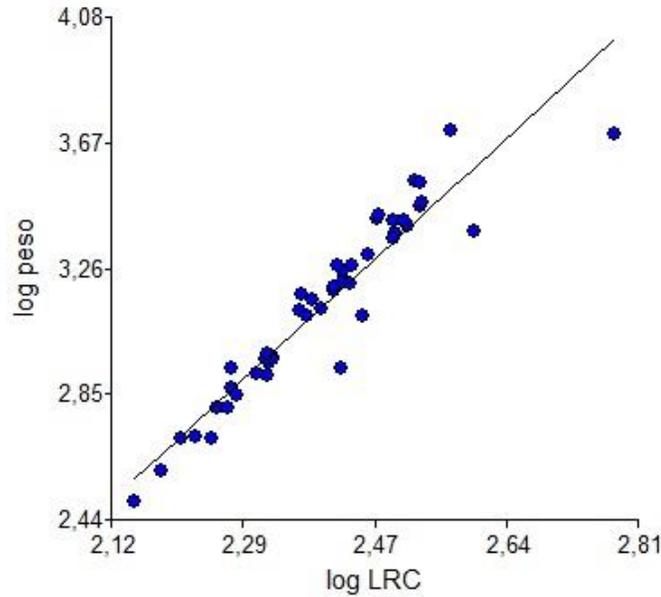


Figura 44. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del sector B2 del A° Buñirigo ($n= 47$, excluyendo a los juveniles).

Tabla 29. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del sector B2 del A° Buñirigo discriminada por sexo y especie.

			Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Total	LRC	210,4 (24)	166	265
	(n= 24)	P	976,3 (291)	487	1682
		ICC	0 (0,04)	-0,08	0,09
		Machos	LRC	208 (25)	166
	(n= 16)	P	926,4 (300)	487	1660
		ICC	-0,01 (0,04)	-0,08	0,06
Hembras		LRC	215 (22)	194	265
(n= 8)	P	1076,2 (258)	882	1682	

		ICC	0,03 (0,04)	-0,04	0,09
<i>Phrynosops hilarii</i>	Total	LRC	255 (81)	139,5	605
	(n= 49)	P	1641,2 (1134)	293	5184
		ICC	-8 E-4 (0,09)	-0,31	0,19
	Machos	LRC	262,3 (56)	182	395
	(n= 23)	P	1607,6 (758)	642	2943
		ICC	-0,01 (0,08)	-0,26	0,09
	Hembras	LRC	257,3 (97)	141,5	605
	(n= 24)	P	1781,4 (1402)	320	5184
		ICC	0,01 (0,11)	-0,31	0,19
Sexo indet.	LRC	144,7 (7)	139,5	150	
(n= 2)	P	354 (73)	293	397	

D) Epibiontes

De la muestra de 24 individuos de *H. tectifera* de este sector del arroyo, en el 41,67 % de la misma se observaron algas sobre el caparazón dorsal. La categoría de menor cobertura fue la de mayor frecuencia relativa (valor 1= 20,83 %), mientras que las categorías con coberturas intermedias (valores 2 y 3) tuvieron porcentajes iguales a 12,5 % y 8,33 %, respectivamente. Respecto a la fracción animal de epibiontes, se observaron huevos y adultos de temnocéfalos y larvas de quironómidos. Dado que el primer grupo tuvo una abundancia ampliamente superior al segundo (el cual estuvo presente sobre el caparazón de una única tortuga y con muy baja abundancia) el resultado del IIR arrojó a los temnocéfalos como el único grupo de importancia para el ensamble de zoepibiontes de *H. tectifera* (Tabla 30). En cuanto a la muestra correspondiente a la especie *P. hilarii*, ningún individuo de la misma presentó ni cobertura de algas ni zoepibiontes sobre el caparazón.

Tabla 30. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual y resultados del IIR para el ensamble de zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del sector B2 del A° Buñirigo. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
<i>Temnocephala</i> sp. (huevos)	88,7	50	94,6	97,05
<i>Temnocephala</i> sp. (adultos)	11,3	16,67	5,4	2,95
Chironomidae (larvas)	0,006	4,17	0	0,0003

E) Proporción de sexos

Tal como se mencionó en la sección 2.2.2.E), el N total por especie empleado para este análisis en este arroyo es superior al utilizado en los restantes análisis, dado que se adicionaron los datos obtenidos en años inmediatos anteriores. Por consiguiente, el N empleado aquí para *H. tectifera* es igual a 49 (11 hembras y 38 machos) y el N para *P. hilarii* es de 110 (46 hembras y 64 machos).

La proporción de sexos estuvo sesgada hacia los machos para ambas especies, más marcadamente en *H. tectifera* (3,45:1), que en *P. hilarii* (1,39:1). Tal sesgo difirió significativamente del valor 1:1 esperado en *H. tectifera* ($X^2= 14,87$; $p < 0,0001$; $gl= 1$) pero no en *P. hilarii* ($X^2= 2,94$; $p < 0,08$; $gl= 1$).

2.4.1.7. A° Sauce Grande

Se realizaron 14 muestreos en este arroyo en los que se capturó un total de 12 tortugas: 2 machos y 10 hembras. No se logró alcanzar el N mínimo propuesto inicialmente a pesar de que el esfuerzo de muestreo fue alto en comparación con otros cursos de agua estudiados en esta tesis (ej. tramo medio del A° Rodríguez) lo que indica que, comparativamente, el A° Sauce Grande presenta una baja abundancia relativa de *H. tectifera*.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

En la muestra de *H. tectifera* obtenida en el A° Sauce Grande no se observó que ningún individuo presentara ulceraciones en el caparazón. El valor de PTEC para la muestra total fue igual a 0.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

El tipo de lesión de mayor prevalencia fue “Daño en queratina”, cuyo valor rondó el 90 %, marcadamente mayor a las restantes dos categorías presentes (Fig. 45).

Respecto al IIR, los resultados fueron similares para el caparazón dorsal y el ventral, siendo “Daño en queratina” la categoría de mayor importancia para ambos (Tabla 31).

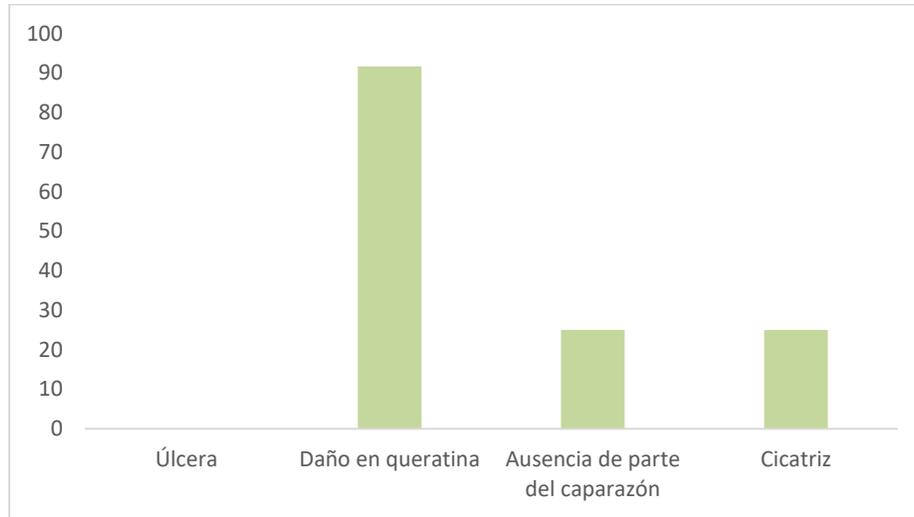


Figura 45. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande por tipo de lesión.

Tabla 31. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
Úlcera	0,00	0,00	0,00
Daño en queratina	81,77	93,14	84,79
Ausencia de parte del caparazón	7,97	1,23	4,84
Cicatriz	10,26	5,63	10,38

C) Índice de Condición Corporal

Los valores medios de la LRC y el peso para la población de *H. tectifera* de este arroyo fueron de 216,1mm y 985,6g, respectivamente (Tabla 32). La fórmula de regresión obtenida entre el log del peso y el log de LRC fue: $\log P = -0,08 + 0,19 \cdot \log LRC$ ($R^2=1$; Fig. 46) y, el valor medio

del ICC para la muestra total de la especie en este arroyo fue $8 \text{ E-}6$ ($\pm 3,9 \text{ E-}4$; Tabla 32). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 32), aunque el ICC no fue significativamente diferente entre sexos ($t= 0,73$; $p= 0,48$; $gl= 10$).

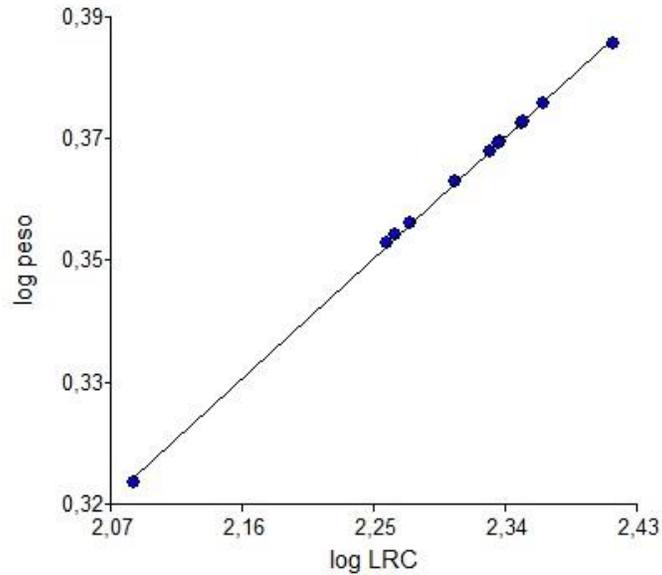


Figura 46. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Sauce Grande ($n= 12$).

Tabla 32. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de *H. tectifera* del A° Sauce Grande discriminada por sexo.

		Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
Total ($n= 12$)	LRC	205,9 (34)	122	260
	P	995,8 (348)	244	1602
	ICC	$8 \text{ E-}6$ ($3,9 \text{ E-}4$)	$-7,8 \text{ E-}4$	$4,3 \text{ E-}4$
Machos ($n= 2$)	LRC	224,2 (50)	188,5	260
	P	1159,5 (626)	717	1602
	ICC	$-1,9 \text{ E-}4$ ($8,3 \text{ E-}4$)	$-7,8 \text{ E-}4$	$4 \text{ E-}4$

Hembras	LRC	202,3 (33)	122	233
(n= 10)	P	963,1 (311)	244	1311
	ICC	3,8 E-5 (3,2 E-4)	-6,6 E-4	4,3 E-4

D) Epibiontes

La mitad de la muestra correspondiente de este arroyo no presentó cobertura de algas sobre su caparazón dorsal, mientras que la mitad restante estuvo distribuida principalmente entre las categorías de mayor cobertura (3= 25%; 4= 17 %), y un pequeño porcentaje en la categoría 2 (8 %). Respecto a la fracción animal de epibiontes, el ensamble estuvo compuesto por sanguijuelas y oligoquetos acuáticos, caracoles acuáticos (Fam. Ancyliidae) y larvas de quironómidos. Los resultados del IIR, por su parte, determinaron que el único grupo importante fueron las sanguijuelas, mientras que el resto de los taxones obtuvieron valores muy pequeños, inferiores a 1 (Tabla 33).

Tabla 33. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble de zooepibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
Hirudinea	97,12	83,33	94,4	99,56
Oligochaeta	2	8,33	1,9	0,19
Chironomidae (larvas)	0,79	8,33	1,9	0,14
Gasteropoda Ancyliidae	0,1	8,33	1,9	0,1

E) Proporción de sexos

La proporción de sexos tuvo un claro sesgo hacia las hembras (1:5) significativamente distinto del valor esperado ($\chi^2= 5,33$; $p < 0,02$; $gl= 1$).

2.4.1.8. A° Tanti

En los tres muestreos realizados en el A° Tanti se capturaron 20 tortugas (14 machos y 6 hembras) de *H. tectifera*, la única especie allí registrada, logrando el N mínimo propuesto inicialmente.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la muestra de 20 individuos de *H. tectifera* obtenida en este arroyo, casi la totalidad de la misma (95 %) no presentó úlceras en el caparazón, mientras que el 5% restante correspondió a una hembra que presentó la categoría de IUC “menor” (Fig. 47). El valor de PTEC para este individuo fue 2.

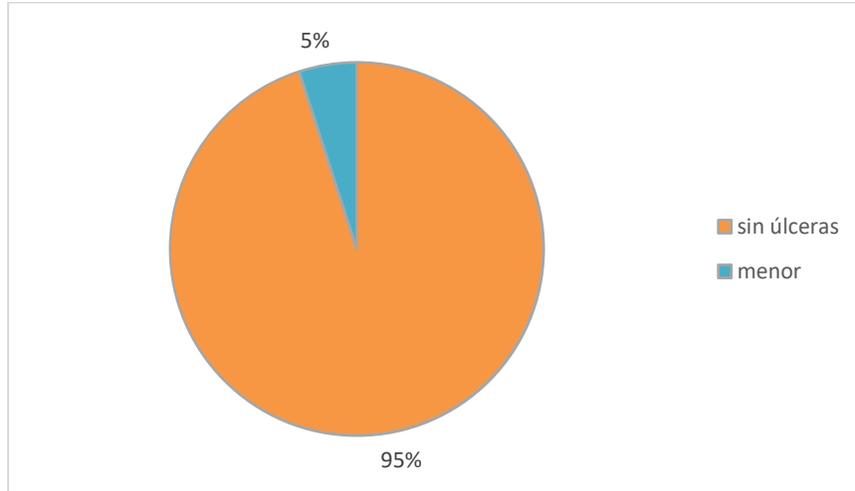


Figura 47. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Tanti.

Tabla 34. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° Tanti según sexo y categoría de IUC.

sexo/IUC	sin úlceras	menor	Total
M	14	0	14
H	5	1	6
Total	19	1	20

Debido a que un único individuo de la muestra (hembra; Tabla 34) presentó úlceras en el caparazón no fue posible realizar un análisis de asociación entre las variables presencia de ulceraciones y sexo.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

El tipo de lesión “Daño en queratina” estuvo presente en todos los individuos con máximo valor de prevalencia, la categoría “Cicatriz” obtuvo un valor de 45 % mientras que las restantes dos categorías presentaron valores de prevalencia muy inferiores (Fig. 48).

Respecto al IIR, los resultados fueron similares para el caparazón dorsal y el ventral, siendo “Daño en queratina” la categoría de única importancia en ambos casos (Tabla 35).

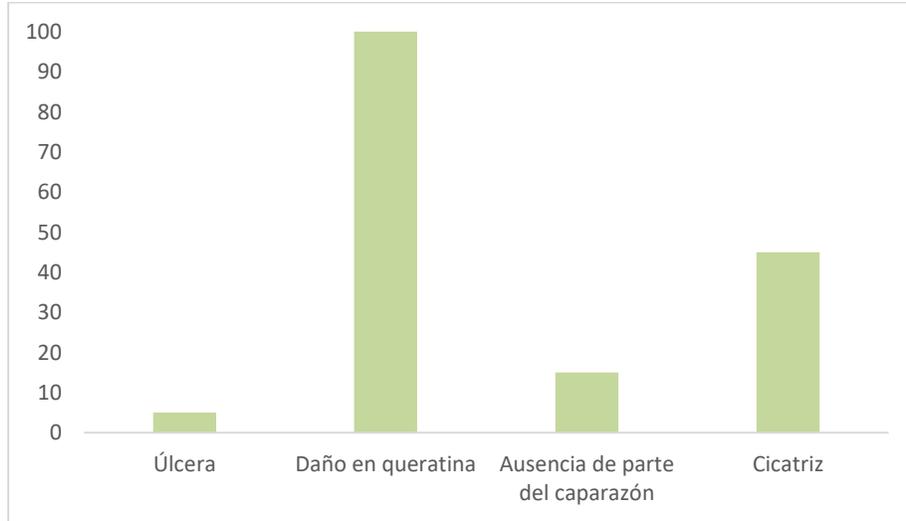


Figura 48. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Tanti por tipo de lesión.

Tabla 35. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Tanti calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
Úlcera	1,04	0	0,02
Daño en queratina	96,13	98,57	96,21
Ausencia de parte del caparazón	0,73	0,70	1,00
Cicatriz	3,11	0,73	2,77

C) Índice de Condición Corporal

Los valores medios de LRC y peso para la población de este arroyo fueron de 187,5mm y 739,5g, respectivamente (Tabla 36). A su vez, la fórmula de regresión obtenida entre el log del peso y el log de LRC fue: $\log P = -3,33 + 2,71 \cdot \log LRC$ (Fig. 49), mientras que el valor

medio del ICC para la muestra total de la especie en este arroyo fue igual a $-5 \text{ E-}4$ ($\pm 0,04$; Tabla 36). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 36), siendo significativamente diferente el valor del ICC entre sexos ($t= 4,02$; $p= 0,0008$; $gl= 18$).

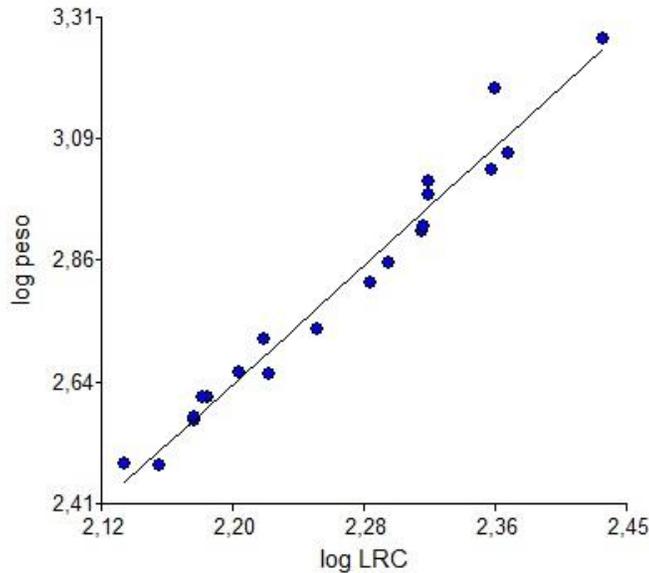


Figura 49. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Tanti ($n= 20$).

Tabla 36. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de *H. tectifera* del A° Tanti discriminada por sexo.

		Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
Total ($n= 20$)	LRC	187,5 (37)	136	269,5
	P	739,5 (429)	302	1884
	ICC	$-5 \text{ E-}4$ (0,04)	-0,05	0,11
Machos ($n= 14$)	LRC	184,9 (31)	143	235,5
	P	654,5 (280)	302	1151
	ICC	-0,02 (0,02)	-0,05	0,03
Hembras	LRC	193,7 (52)	136	269,5

(n= 6)	P	937,7 (654)	306	1884
	ICC	0,04 (0,04)	4,9E-3	0,11

D) Epibiontes

De la muestra de *H. tectifera* de este arroyo, poco más de la mitad (55 %) presentó algas sobre el espaldar, cuyos porcentajes por categoría fueron: 1= 20 %; 2= 20%; y 3= 15 % (la categoría 4 no estuvo presente). Por otro lado, el ensamble animal de epibiontes estuvo conformado por sanguijuelas, larvas de quironómidos y una puesta de huevos cuyo taxón no pudo ser determinado. El resultado del IIR arrojó que el grupo más importante fueron las sanguijuelas, con un valor por encima de 90, mientras que los otros grupos tuvieron valores sumamente menores (Tabla 37).

Tabla 37. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble de zooepibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande. Los taxones están ordenados en orden de importancia decreciente según IIR.

Taxón	N	F	V	IIR
Hirudinea	38,4	60	78,9	94,45
Huevos Gasteropoda	203	5	10,5	4,82
Chironomidae (larvas)	0,3	5	10,5	0,73

E) Proporción de sexos

Si bien la proporción de sexos estuvo sesgada en favor de los machos (2,33:1), este sesgo no resultó significativamente diferente de la proporción esperada 1:1 ($\chi^2 = 3,2$; $p < 0,07$; $gl = 1$).

2.4.1.9. A° Toro Muerto

En los tres muestreos que se realizaron en el A° Toro Muerto se logró alcanzar el N mínimo propuesto para *H. tectifera* (única especie registrada), dado que se capturaron 20 tortugas: 7 machos y 13 hembras.

A) Índice de Ulceración del Caparazón (IUC)

De la muestra total de 20 individuos de la especie *H. tectifera* ninguno de ellos presentó ulceraciones caparaciales, por lo que el valor del PTEC de cada uno fue igual a 0.

B) Índice de Importancia Relativa (IIR) de lesiones en el caparazón

La categoría que obtuvo mayor prevalencia fue “Daño en queratina”, cuyo valor fue casi el doble que el correspondiente a la siguiente categoría, “Cicatriz” (Fig. 50), mientras que la restante categoría presente obtuvo un valor de prevalencia muy inferior. En cuanto al IIR, los resultados obtenidos fueron muy similares para el caparazón dorsal y el ventral, siendo la categoría “Daño en queratina” la de mayor importancia con valores superiores a 90 en ambos casos (Tabla 38).

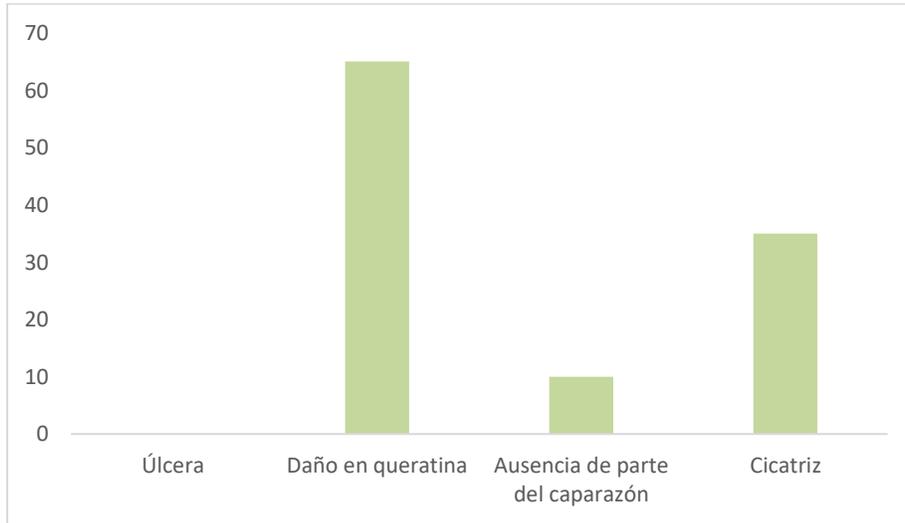


Figura 50. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Toro Muerto por tipo de lesión.

Tabla 38. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Toro Muerto calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.

Tipo de lesión caparacial	IIR Dorsal	IIR Ventral	IIR Total
Úlcera	0,00	0,00	0,00
Daño en queratina	90,69	92,98	87,83
Ausencia de parte del caparazón	0,00	1,17	0,29
Cicatriz	9,31	5,85	11,88

C) Índice de Condición Corporal

Los valores medios de la LRC y el peso para la muestra total de este arroyo fueron de 165mm y 510,8g, respectivamente (Tabla 39). La fórmula de regresión obtenida entre el log del peso y el log de LRC fue: $\log P = -3,38 + 2,72 \cdot \log LRC$ (Fig. 51), mientras que el valor medio del ICC para la muestra total de la especie en este arroyo fue igual a $1 \text{ E-}5$ ($\pm 0,04$; Tabla 39). Los machos tuvieron un valor medio de peso inferior al esperado para la talla (ICC negativo) mientras que para las hembras éste fue superior (ICC positivo; Tabla 39), siendo significativamente diferente el valor del ICC entre sexos ($t = 2,07$; $p = 0,05$; $gl = 18$).

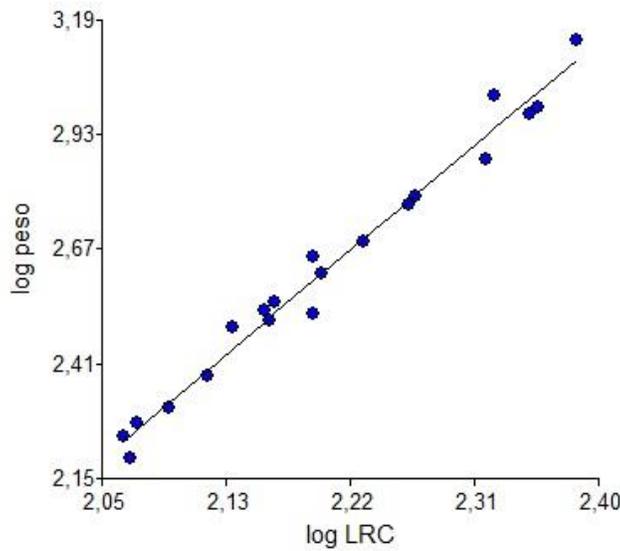


Figura 51. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Toro Muerto (n= 20).

Tabla 39. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de *H. tectifera* del A° Toro Muerto discriminada por sexo.

		Media (\pm DE)	Mínimo	Máximo
Total	LRC	165 (39)	115,5	240
(n= 20)	P	510,8 (340)	156	1381
	ICC	$1 \text{ E-}5$ (0,04)	-0,08	0,07

Machos	LRC	189,2 (29)	157	225,5
(n= 7)	P	646,5 (249)	330	971
	ICC	-0,02 (0,04)	-0,08	0,05
Hembras	LRC	151,8 (38)	115,5	240
(n= 13)	P	437,7 (368)	156	1381
	ICC	0,01 (0,03)	-0,05	0,07

D) Epibiontes

La mayor parte de la muestra correspondiente al A° Toro Muerto (75 %) no presentó cobertura de algas sobre el espaldar mientras que el 25% restante se distribuyó entre las categorías 1 (15 %) y 2 (10 %). En cuanto a la fracción animal de epibiontes, el caparazón de las tortugas de este arroyo estuvo prácticamente libre de ellos, salvo por la presencia de una sanguijuela en un individuo y una puesta de huevos de caracol sin determinar en otro, razón por la cual el IIR para no fue calculado para las tortugas de este arroyo.

E) Proporción de sexos

La proporción de sexos obtenida en este arroyo presentó un leve sesgo en favor de las hembras (1: 1,86) aunque la misma no fue significativamente diferente de la proporción 1:1 esperada ($\chi^2= 1,8$; $p < 0,18$; $gl= 1$).

2.4.2. Comparación por especie entre arroyos

2.4.2.1. *Hydromedusa tectifera*

A) Ulceraciones en el caparazón

La presencia de úlceras en el caparazón de *H. tectifera* se verificó en la mayoría de los arroyos estudiados a excepción de los A° Sauce Grande y Toro Muerto. Comparativamente, los arroyos en los que la proporción de individuos ulcerados estuvo por encima de la media total (0,2) fueron el Carnaval, el sector B2 del Buñirigo, El Gato, Martín y Rodríguez, siendo el primero de ellos el que obtuvo el mayor valor (0,48); mientras que los A° Tubichamini, el

sector 1 del Buñirigo y Tanti fueron los lugares donde esta proporción fue mucho menor que en los restantes arroyos y por debajo de la media total (Fig. 52).

En cuanto a las categorías del Índice de Ulceración Caparacial (IUC), la clase “menor” fue la más frecuente en todos los arroyos estudiados, mientras que la categoría “moderado” obtuvo su mayor proporción en el A° Rodríguez; la categoría “alto” estuvo presente solo en los A° Martín, Rodríguez y sector 2 del Buñirigo, en todos los casos con baja proporción (Fig. 53).

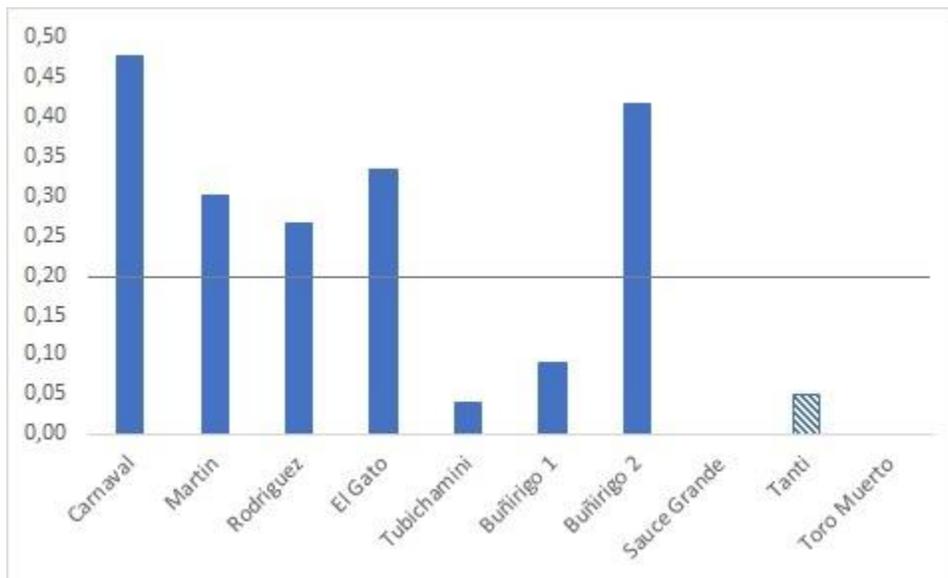


Figura 52. Proporción de individuos de *H. tectifera* con úlceras en el caparazón por arroyo. La línea representa la media de la proporción total de individuos ulcerados. Barras lisas= A° bonaerenses; barras rayadas= A° cordobeses.

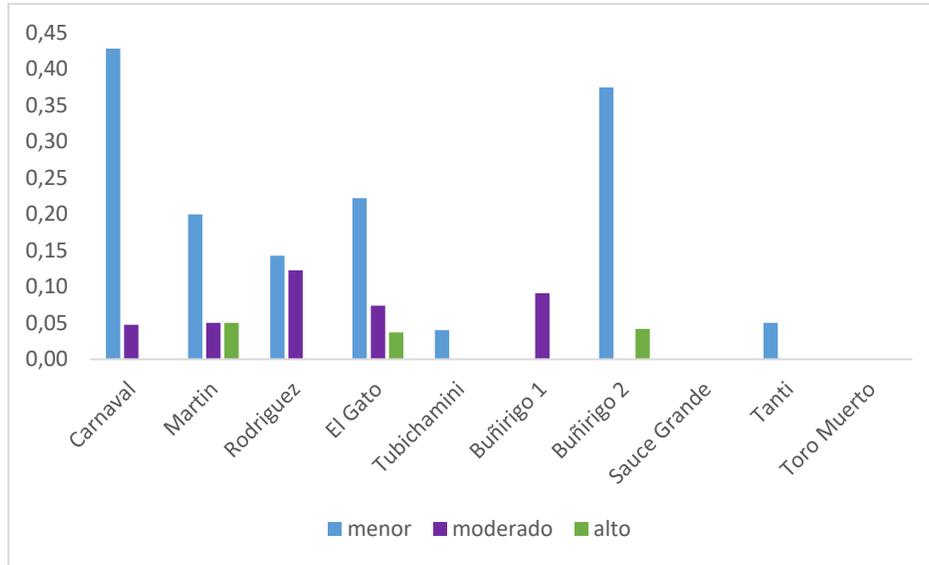


Figura 53. Proporción de individuos de *H. tectifera* con ulceraciones en el caparazón según categoría de IUC por arroyo.

El PTEC fue significativamente diferente entre las tortugas de los distintos arroyos estudiados ($H= 17,02$; $p= 0,0002$): el A° Carnaval resultó significativamente diferente a los A° Tubichamini, Sauce Grande, Tanti y Toro Muerto, y a su vez no difirió de forma significativa de los A° Martín, Rodríguez, El Gato y sectores 1 y 2 del Buñirigo.

Por otro lado, el PTEC no fue significativamente diferente entre sexos para esta especie ($W= 10475,5$; $p= 0,72$) ni tampoco resultó significativo el análisis de asociación entre presencia de úlceras y sexo ($\chi^2=0,03$; $p= 0,85$; $gI=1$), por lo cual ninguno de los dos sexos se vería diferencialmente afectado por la presencia ni la severidad de las úlceras respecto del otro, independientemente del sitio donde habiten.

B) Lesiones en el caparazón

En general, los valores medios del porcentaje del caparazón total de *H. tectifera* ocupado por los distintos tipos de lesiones (daño en queratina, ausencia de parte del caparazón y cicatriz) resultaron bajos en todos los arroyos estudiados, siendo en todos los casos menores al 10% (Fig. 54). Comparativamente, la categoría “Daño en queratina” obtuvo sus mayores valores medios en los A° Tanti, Toro Muerto, El Gato y Carnaval. Para la lesión “Ausencia de parte del caparazón” los valores medios más altos se dieron en el sector B2 de A°

Buñirigo y en El Gato, mientras que la lesión “Cicatriz”, obtuvo sus mayores valores medios en los A° Martín, Rodríguez y el sector B2 del Buñirigo (Fig. 54).

Por su parte la comparación estadística de los porcentajes de cada tipo de lesión del caparazón entre los arroyos estudiados arrojó diferencias significativas en todas las lesiones (Tabla 40). Las comparaciones a posteriori indican que el área ocupada por la categoría “Daño en queratina” fue significativamente mayor para la población del A° Tanti respecto de las poblaciones de todos los arroyos restantes excepto el A° Carnaval; este último a su vez tuvo un valor significativamente mayor respecto de las poblaciones de los arroyos El Gato, Rodríguez, Tubichamini y el sector B1 del Buñirigo, pero no difirió significativamente de los arroyos Toro Muerto, Sauce Grande, Martín y sector B2 del Buñirigo. En lo que respecta a la categoría “Ausencia de parte del caparazón”, el valor correspondiente al sector B2 del A° Buñirigo fue significativamente mayor al obtenido para las tortugas del sector B1 del mismo arroyo, Toro Muerto, Tanti, Sauce Grande, Tubichamini y Martín, mientras que no difirió significativamente del obtenido para los arroyos Carnaval, El Gato y Rodríguez. Por último, en cuanto al tipo de lesión “Cicatriz”, los valores para las muestras del A° Carnaval y el sector B2 del Buñirigo fueron significativamente mayores que las correspondientes a los A° Sauce Grande, Tubichamini, Toro Muerto, sector B1 del Buñirigo, Tanti y Rodríguez, mientras que los valores para los A° Martín y El Gato no fueron significativamente diferentes de los obtenidos para los grupos mencionados.

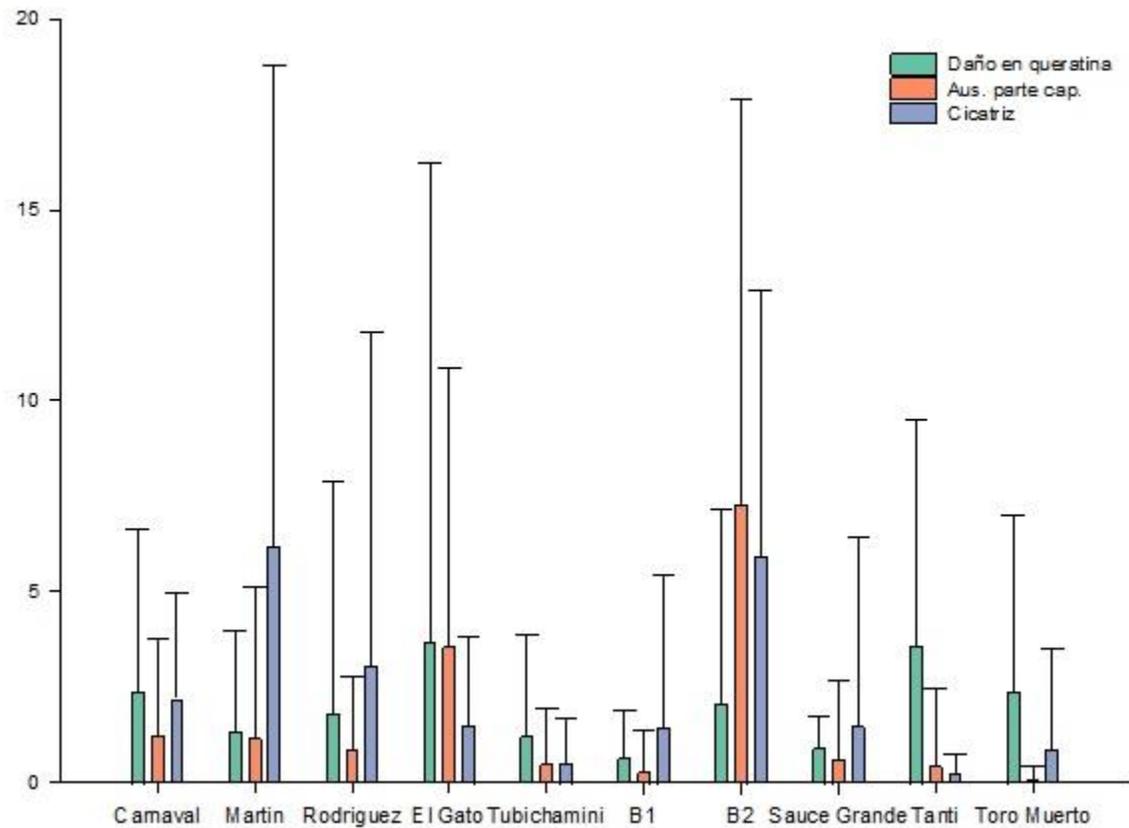


Figura 54. Valores medios del porcentaje del caparazón total ocupado por cada tipo de lesión del caparazón para *H. tectifera* según arroyo.

Tabla 40. Coeficientes (H) de los análisis de varianza no paramétrica Kruskal-Wallis y significancia de las comparaciones entre arroyos por tipo de lesión para *H. tectifera*.

Tipo de lesión de caparazón	H	P
Daño en queratina	36,50	<0,0001
Ausencia de parte del caparazón	19,13	0,0012
Cicatriz	28,78	0,0001

C) Índice de Condición Corporal (ICC)

En todos los arroyos estudiados, el valor medio del ICC para las hembras de *H. tectifera* resultó positivo, mientras que para los machos resultó negativo. Al realizar las

comparaciones del ICC entre arroyos para machos y hembras por separado, éstas resultaron no significativas (Machos: $H = 5,9$; $p = 0,74$; Hembras: $10,7$; $p = 0,34$). Por lo tanto, se comparó el ICC global de cada población (sin discriminar por sexos) entre arroyos, obteniendo resultados muy similares entre sí, con la media en todos los casos cercana a 0. Esto se comprobó estadísticamente por medio del análisis comparativo del ICC entre arroyos, que también resultó no significativo ($H = 1,35$; $p = 0,99$), con lo cual los pesos de las tortugas fueron, en general, muy similares a los esperados para sus respectivas tallas con independencia del sexo y del sitio en el que habitan.

D) Epibiontes

De manera general, en todos los arroyos estudiados hubo tortugas en las muestras correspondientes a esta especie que presentaron cobertura de algas sobre el espaldar, con valores variables entre sí. Los arroyos cuya proporción de individuos con algas sobre el caparazón estuvieron por encima de la media (0,52) fueron el sector B1 del Buñirigo, Tubichamini y Tanti (0,91, 0,64 y 0,55, respectivamente; Fig. 55), mientras que este valor fue coincidente para el A° Carnaval. En los restantes arroyos tal proporción estuvo por debajo de la media, rondando el 0,5, excepto el A° Toro Muerto, el único curso de agua donde este valor fue considerablemente menor (0,25).

Por otro lado, al discriminar los datos según categoría de cobertura de algas se observó que en los arroyos con mayor proporción de individuos con algas (sector B1 del Buñirigo y Tubichamini) la categoría más frecuente fue la de mayor cobertura (4; Fig. 56). En los restantes arroyos, las categorías presentes tuvieron una representación variable, aunque la categoría de menor cobertura (1) fue la que resultó con la mayor proporción en casi todos los casos, a excepción del A° Sauce Grande en donde la prevalente fue la categoría 3 (Fig. 56).

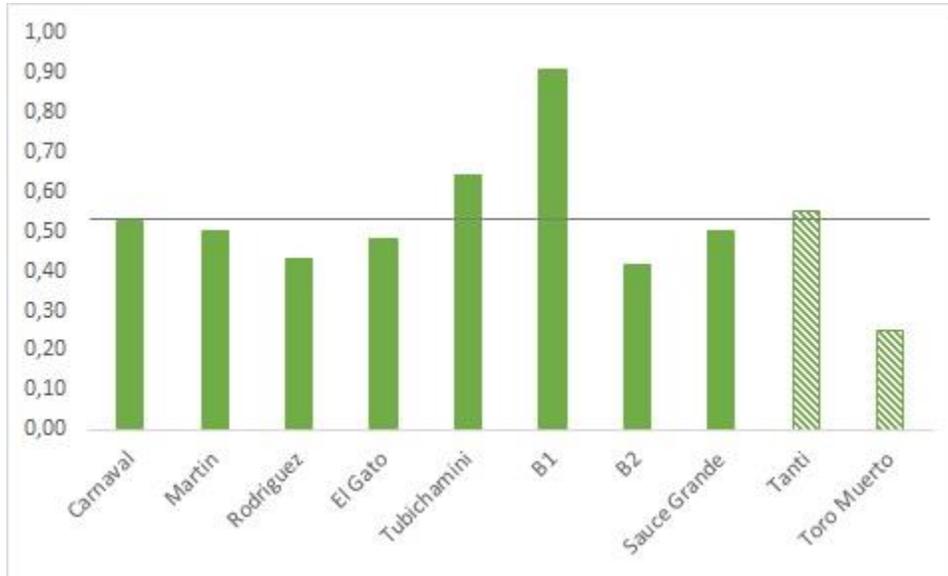


Figura 55. Proporción de individuos de *H. tectifera* con algas sobre el espaldar según arroyo. La línea representa la media de la proporción total de individuos con algas en el espaldar. Barras lisas= A° bonaerenses; barras rayadas= A° cordobeses.

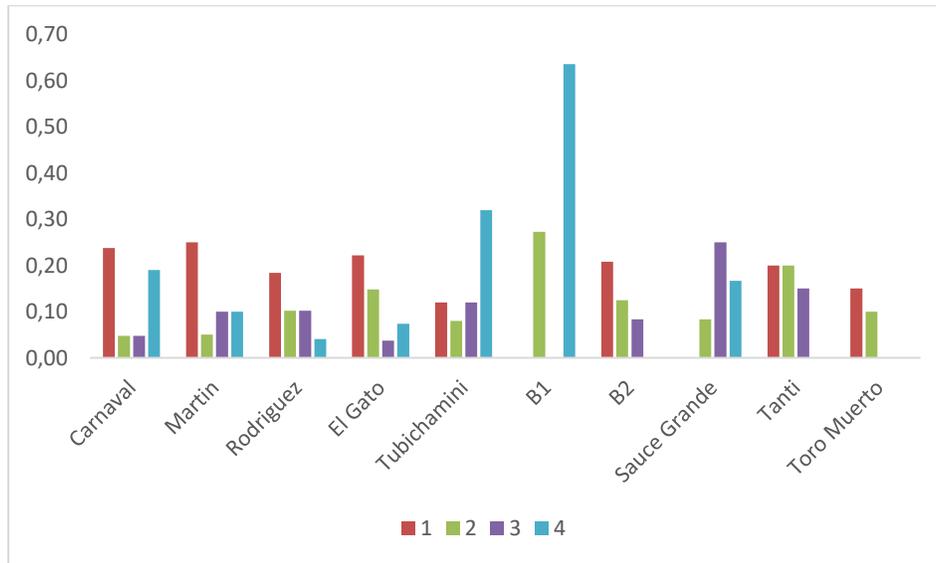


Figura 56. Proporción de individuos de *H. tectifera* con algas sobre el espaldar según categoría de cobertura algal por arroyo. 1= <25 %; 2= 25,1-50 %; 3= 50,1-75 %; 4= >75 %.

A su vez, la cobertura de algas resultó significativamente diferente entre los arroyos estudiados ($H= 26,74$; $p= 0,0003$; Fig. 57): las comparaciones a posteriori indicaron que los arroyos que difirieron significativamente entre sí fueron el grupo de Rodríguez, sector B2 del

Buñirigo y Toro Muerto (menor cobertura de algas) respecto del grupo formado por los A° Tubichamini y el sector B1 de Buñirigo (mayor cobertura de algas).

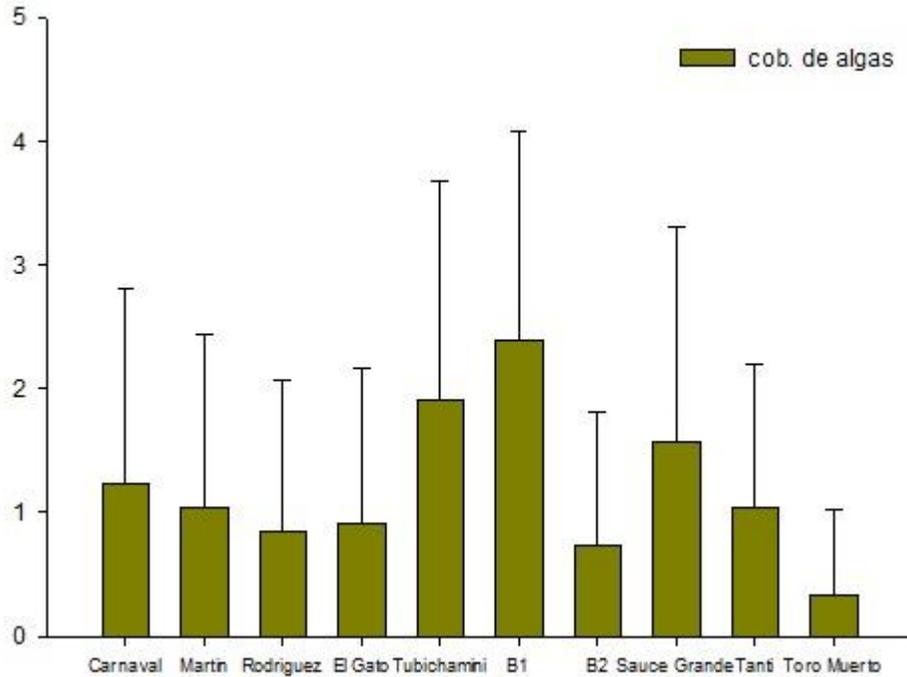


Figura 57. Valores medios de la cobertura de algas en el espaldar de *H. tectifera* según arroyo.

Respecto al zoopibiontes en esta especie, la presencia y composición de los ensambles fue variable y contrastante entre los distintos arroyos estudiados. Por un lado, teniendo en cuenta solo el número de grupos taxonómicos presentes sobre el caparazón de las tortugas, la población del A° Tubichamini fue la que presentó la mayor cantidad (10 taxa) seguido por la del A° Carnaval (8 taxa), mientras que este valor fue marcadamente menor para los A° Toro Muerto (2 taxa), el sector B2 de Buñirigo (2 taxa) y El Gato (1 taxón) (Tabla 41). Por otro lado, si bien la presencia de zoopibiontes fue registrada para todos los arroyos estudiados, la proporción de individuos con zoopibiontes fue marcadamente menor en los A° Toro Muerto, El Gato y el sector B2 del Buñirigo, cuyos valores estuvieron muy por debajo del valor medio (0,66), mientras que este valor fue próximo a 1 para los A° Tubichamini y Rodríguez e igual a 1 para el sector B1 del Buñirigo (Fig. 58).

Tabla 41. Lista de grupos taxonómicos presentes en los ensambles de zoopibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* según arroyo. Gast.= Gasteropoda, Car.= Carnaval, Mar.= Martín, Rod.= Rodríguez, Tubi.= Tubichamini, S.G.= Sauce Grande, Tan.= Tanti, T.M.= Toro Muerto.

Taxón/Arroyo	Car.	Mar.	Rod.	Gato	Tubi.	B1	B2	S.G.	Tan.	T.M.
<i>Temnocephala</i> sp. (adultos y huevos)	x	x			x	x	x			
Planariidae					x					
Nematoda	x	x			x	x				
Hirudinea	x	x	x	x	x	x		x	x	x
Oligochaeta	x	x	x					x		
Bivalvia					x					
Gast. Ancyliidae	x				x			x		
Gast. Physidae			x							
Gast. <i>Sinotaia quadrata</i>	x									
Gast. huevos	x				x				x	x
Amphipoda (<i>Hyallolela</i> sp.)	x		x			x				
Copepoda		x	x							
Chironomidae (larvas)		x	x		x	x	x	x	x	
Coleoptera (adultos)					x					
Ephemeroptera (náyades)					x					

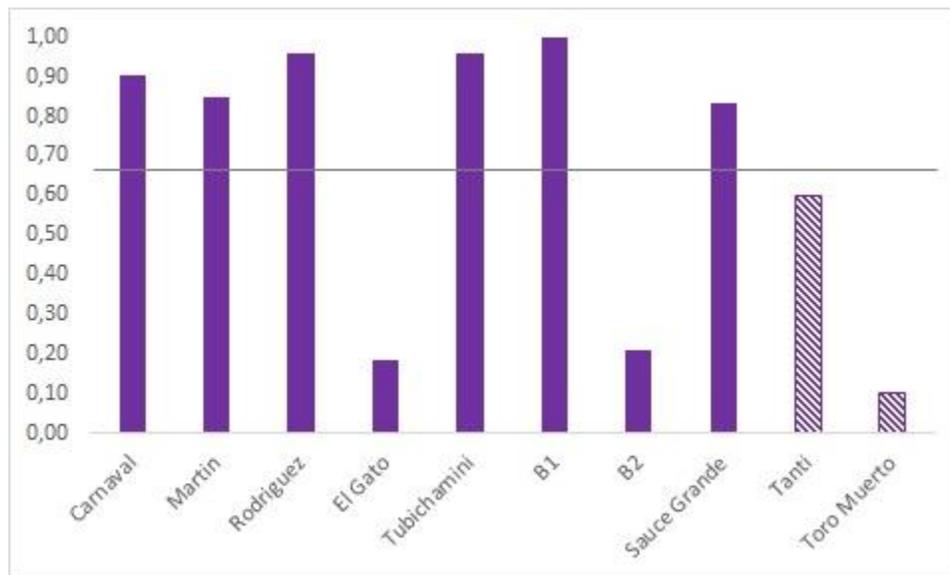


Figura 58. Proporción de individuos de *H. tectifera* con zoopibiontes según arroyo. La línea representa la media de la proporción total de individuos con zoopibiontes. Barras lisas= A° bonaerenses; barras rayadas= A° cordobeses.

Por último, los resultados del ANOSIM arrojaron que la abundancia de los ensambles de zoopibiontes de *H. tectifera* fue significativamente diferente entre arroyos ($R = 0,465$, significancia=0,001). Se decidió excluir de este análisis al A° Toro Muerto debido a la baja abundancia que presentaron los taxones presentes en el ensamble. Los pares de arroyos que mostraron mayores diferencias fueron Tubichamini- Sauce Grande, B1-Sauce Grande, Rodríguez-Tubichamini, Rodríguez-B1, Tubichamini-Tanti y El Gato-Tubichamini (Tabla 42).

Tabla 42. Valores de ANOSIM para abundancia de los ensambles de zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* global y por pares de arroyos (se muestran los resultados con $R > 0,65$). Rod= Rodríguez, Tan= Tanti, Tubi= Tubichamini, SG= Sauce Grande.

	R	Significancia
Test global	0,465	0,001
Test de los pares		
Tubi- SG	0,848	0,001
B1- SG	0,793	0,001
Rod- Tubi	0,751	0,001
Rod- B1	0,714	0,001
Tubi- Tan	0,702	0,001
Gato- Tubi	0,666	0,001

Para los mencionados pares, el análisis SIMPER determinó que el taxón que más contribuyó a la disimilitud en cada uno de ellos fue *Temnocephala*. Para el par Tubichamini-Sauce Grande este grupo tuvo una contribución del 63,84 % por su mayor abundancia en el A° Tubichamini, seguido por los hirudineos (Tabla 43); para el par B1-Sauce Grande, su contribución fue del 70,49 % por su mayor abundancia en el sector B1 del Buñirigo (Tabla 44); en cuanto al par Rodríguez-Tubichamini los temnocéfalos contribuyeron con el 60,85 % por su mayor abundancia en el segundo arroyo, seguidos por los quironómidos y nematodos, alcanzando entre los tres taxones una contribución acumulada del 81,99 % (Tabla 45); para el par Rodríguez-B1, la contribución de *Temnocephala* fue del 68,79 % por su mayor abundancia en el segundo arroyo, seguido por los quironómidos, con mayor abundancia en el primer arroyo (Tabla 46); mientras que en los pares Tubichamini-Tanti y El Gato-

Tubichamini, la contribución de los temnocéfalos fue del 73,59 % y 79,54 %, respectivamente, en ambos por su mayor abundancia en el A° Tubichamini (Tablas 47 y 48).

Tabla 43. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Tubichamini y Sauce Grande.

Epibionte	Prom. abund. Tubichamini	Prom. abund. Sauce Grande	Prom. Disimilitud	Contrib %	Acumul. %
<i>Temnocephala</i>	8,73	0	61,27	63,84	63,84
Hirudinea	0,67	2,85	20,04	20,88	84,73

Tabla 44. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre el sector B1 del A° Buñirigo y Sauce Grande.

Epibionte	Prom. abund. B1	Prom. abund. Sauce Grande	Prom. Disimilitud	Contrib %	Acumul. %
<i>Temnocephala</i>	10,38	0	68,84	70,49	70,49

Tabla 45. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Rodríguez y Tubichamini.

Epibionte	Prom. abund. Rodríguez	Prom. abund. Tubichamini	Prom. Disimilitud	Contrib %	Acumul. %
<i>Temnocephala</i>	0	8,73	59,61	60,85	60,85
Chironomidae	1,73	0,1	12,03	12,28	73,14
Nematoda	0,01	1,73	8,68	8,86	81,99

Tabla 46. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Rodríguez y el sector B1 del Buñirigo.

Epibionte	Prom. abund. Rodríguez	Prom. abund. B1	Prom. Disimilitud	Contrib %	Acumul. %
<i>Temnocephala</i>	0	10,38	67,42	68,79	68,79
Chironomidae	1,73	0,06	10,20	10,41	79,20

Tabla 47. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Tubichamini y Tanti.

Epibionte	Prom. abund. Tubichamini	Prom. abund. Tanti	Prom. Disimilitud	Contrib %	Acumul. %
<i>Temnocephala</i>	8,73	0	71,71	73,59	73,59

Tabla 48. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos El Gato y Tubichamini.

Epibionte	Prom. abund. El Gato	Prom. abund. Tubichamini	Prom. Disimilitud	Contrib %	Acumul. %
<i>Temnocephala</i>	0	8,73	78,97	79,54	79,54

E) Proporción de sexos

En líneas generales, la relación entre machos y hembras de *H. tectifera* estuvo mayormente sesgada en favor de los primeros (en 8 de los 10 arroyos estudiados). Sin embargo, las proporciones entre sexos obtenidas solo fueron significativamente diferentes a la relación esperada 1:1 en los A° Martín, Tubichamini y el sector B2 del Buñirigo, en los cuales hubo 4, 1,88 y 3,45 machos por cada hembra, respectivamente (Tabla 49). En los únicos arroyos donde esta proporción estuvo sesgada en favor de las hembras fueron los A° Sauce Grande

y Toro Muerto, siendo significativamente diferente a la proporción esperada 1:1 solo para el primero, en el cual hubo un macho cada 5 hembras (Tabla 48).

Tabla 49. Número de machos y hembras, proporción de sexos y significancia de los test Chi² de las poblaciones de *H. tectifera* por arroyo. Los valores de *p* significativos se indican en negrita.

Arroyo	Machos	Hembras	M:H	<i>p</i>
Carnaval	14	7	2:1	0,12
Martín	16	4	4:1	0,007
Rodríguez	26	23	1,13:1	0,66
El Gato	18	9	2:1	0,08
Tubichamini	34	18	1,88:1	0,02
Buñirigo 1 (B1)	7	4	1,75:1	0,36
Buñirigo 2 (B2)	38	11	3,45:1	0,0001
Sauce Grande	2	10	1:5	0,02
Tanti	14	6	2,33:1	0,07
Toro Muerto	7	13	1:1,86	0,18

2.4.2.2. *Phrynops hilarii*

A) Ulceraciones en el caparazón

Ningún individuo de la especie *P. hilarii* capturado en el marco de la presente tesis presentó ulceraciones en el caparazón.

B) Lesiones en el caparazón

Sin considerar a las úlceras (ausentes en la especie), los valores medios del porcentaje del caparazón total ocupado por los restantes tipos de lesión (daño en queratina, ausencia de parte del caparazón y cicatriz) fueron siempre inferiores al 1% (Fig. 59). Comparativamente, el curso de agua en que los tres valores resultaron mayores fue el A° Rodríguez.

La comparación estadística realizada entre los arroyos estudiados basados en estos porcentajes arrojó diferencias significativas para las variables “Ausencia de parte del caparazón” y “Cicatriz” pero no para “Daño en queratina” (Tabla 50). Para el primer caso, el área de caparazón ocupada por esta lesión fue significativamente mayor para la muestra del A°

Rodríguez respecto de las muestras de los A° Tubichamini, El Gato y el sector B1 del Buñirigo, mientras que la muestra del A° Buñirigo B2 no difirió significativamente de ninguna de las restantes. En cuanto a la lesión “Cicatriz”, los valores obtenidos para las tortugas de los A° El Gato y el sector B1 del Buñirigo resultaron significativamente menores que las del A° Rodríguez, mientras que los valores correspondientes a los A° Tubichamini y el sector B2 del Buñirigo no difirieron de forma significativa con respecto a los dos grupos mencionados.

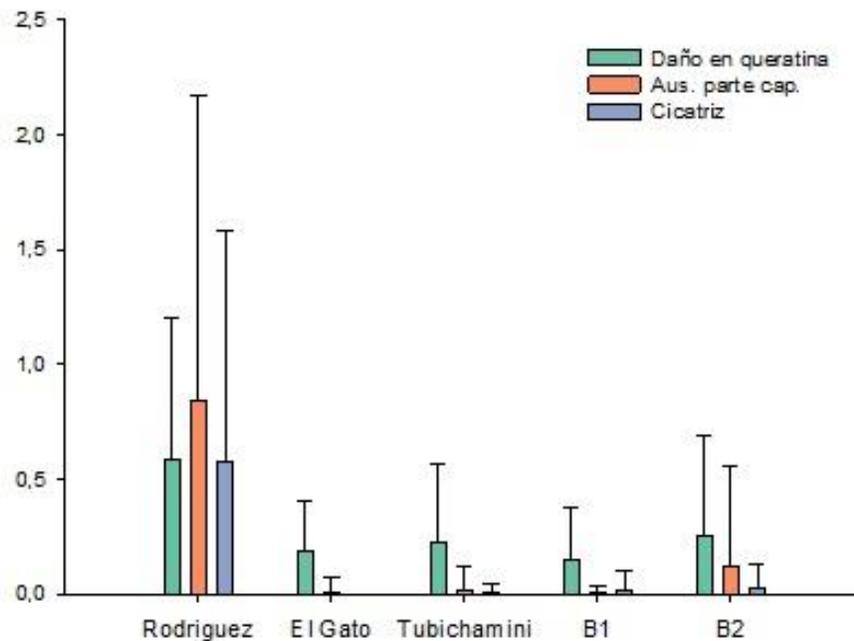


Figura 59. Valores medios del porcentaje del caparazón total ocupado por cada tipo de lesión del caparazón de *P. hilarii*, según arroyo.

Tabla 50. Coeficientes de los test Kruskal-Wallis (H) y significancia para las comparaciones entre arroyos por tipo de lesión para la especie *P. hilarii*.

Tipo de lesión de caparazón	H	p
Daño en queratina	5,44	0,23
Ausencia de parte del caparazón	6,42	<0,0001
Cicatriz	6,21	0,0002

C) Índice de Condición Corporal (ICC)

El ICC de las distintas poblaciones de *P. hylarii* estudiadas fue similar entre sí y con un valor promedio igual a 0; consecuentemente el análisis comparativo del ICC entre arroyos resultó no significativo ($H= 3,16$; $p= 0,52$). De igual manera, los análisis comparativos entre cursos de agua realizados separadamente por sexo también resultaron no significativos (machos: $H= 1,31$; $p= 0,85$; hembras: $H= 2,26$; $p= 0,68$).

D) Epibiontes

Si bien la presencia de algas sobre el caparazón en esta especie fue registrada para casi todos los arroyos estudiados, la proporción de individuos que presentaron algas (mayormente en el espaldar, pero en algunos casos también en el plastrón) fue en general baja (media= 0,24), a excepción del sector B1 del A° Buñirigo donde ésta fue considerablemente más alta y por encima de la media (Fig. 60).

En cuanto al grado de cobertura de algas sobre el caparazón, la categoría de mayor frecuencia, tanto en el espaldar como en el plastrón, fue la de menor cobertura (1) en todos los arroyos estudiados (Fig. 61). Al discriminar los datos entre caparazón dorsal y ventral se observó que los resultados fueron similares entre sí para la mayoría de los cursos de agua, excepto para el sector B1 del A° Buñirigo donde la proporción de individuos con algas en el espaldar fue mayor respecto de la proporción de tortugas con algas en el plastrón (Fig. 61). Por otra parte, este mismo sector además fue el único que presentó todas las categorías de cobertura.

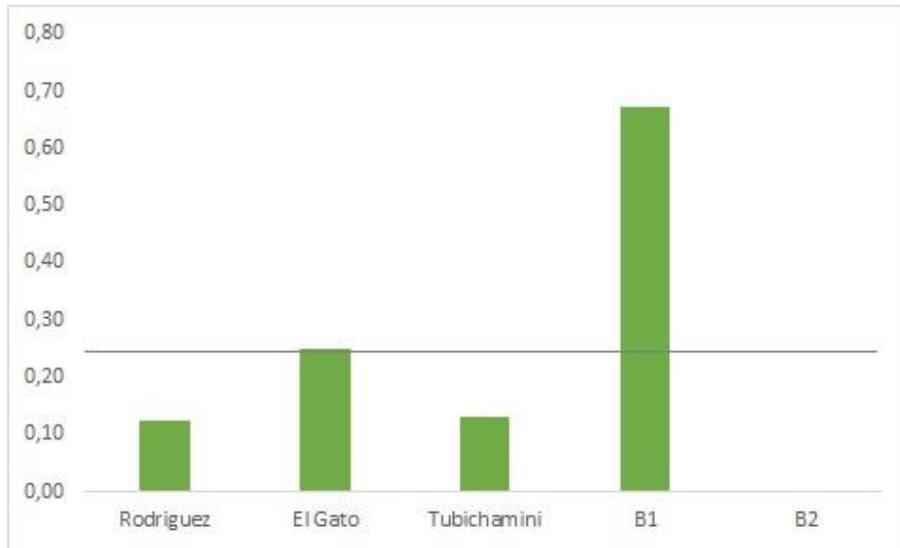


Figura 60. Proporción de *P. hilarii* con algas sobre el caparazón según arroyo. La línea representa la media de la proporción total de individuos con algas en el espaldar.

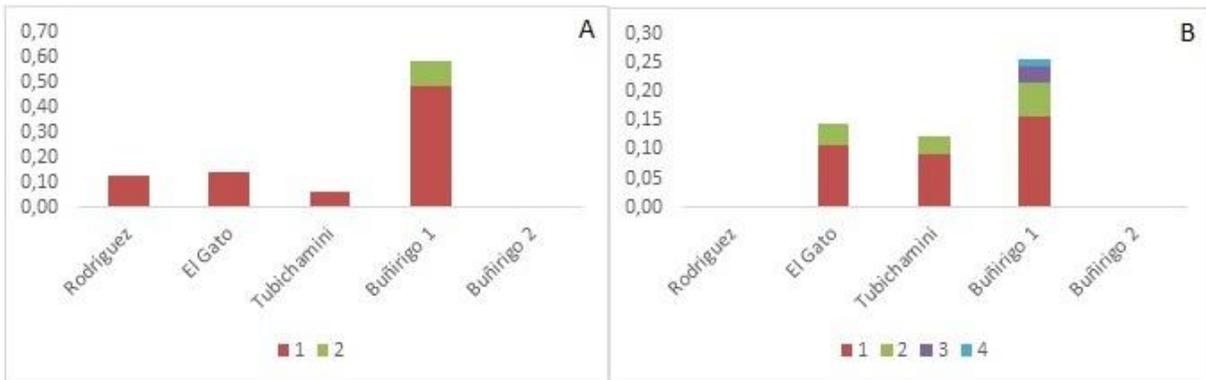


Figura 61. Proporción de individuos de *P. hilarii* con algas sobre el caparazón según categoría de cobertura de algas por arroyo: A) Dorsal, B) Ventral. 1= <25 %; 2= 25,1-50 %; 3= 50,1-75 %; 4= >75 %.

A su vez, la cobertura de algas dorsal resultó significativamente diferente entre los arroyos estudiados ($H= 37,9$; $p= 0,0001$), siendo el sector B1 del Buñirigo el que tuvo cobertura significativamente mayor al resto.

Respecto a la fracción animal de epibiontes, en general esta especie no presentó zooepibiontes, a excepción de las poblaciones del sector B1 del A° Buñirigo y del A° Tubichamini y de la única tortuga capturada en el A° Carnaval, aunque con valores bajos de abundancia y

número de grupos taxonómicos presentes en los ensamblajes. Para el primero de estos arroyos la composición del ensamblaje estuvo basada solo en dos grupos taxonómicos (temnocéfalos y sanguijuelas), mientras que para los restantes arroyos hubo un único grupo en cada uno (sanguijuelas en Tubichamini y temnocéfalos en Carnaval). Además, la proporción de individuos con zoepibiontes también fue baja para estos arroyos: 0,1 para el sector B1 del Buñirigo y 0,06 para el Tubichamini (la proporción para el Carnaval no fue calculada por contar con un solo individuo). Debido a las bajas abundancias no se realizaron los test ANOSIM y SIMPER para la comparación de los ensamblajes de zoepibiontes entre arroyos.

E) Proporción de sexos

La proporción de sexos en *P. hilarii* estuvo sesgada hacia los machos en tres de los arroyos estudiados (El Gato, Tubichamini y el sector B2 del Buñirigo), siendo significativamente diferente a la proporción esperada en los dos primeros (Tabla 51), mientras que en los restantes arroyos estuvo sesgada en un caso hacia las hembras (sector B1 del Buñirigo) y en el otro la proporción observada fue igual a la esperada 1:1 (A° Rodríguez).

Tabla 51. Número de machos y hembras, proporción de sexos y significancia de los test Chi² para las poblaciones de *P. hilarii* por arroyo. Los valores de *p* significativos se indican en negrita.

Arroyo	Machos	Hembras	M:H	<i>p</i>
Rodríguez	4	4	1:1	0,66
El Gato	21	5	4,2:1	0,01
Tubichamini	31	15	2,06:1	0,02
Buñirigo 1 (B1)	31	33	1:1,06	0,8
Buñirigo 2 (B2)	64	46	1,39:1	0,08

2.4.3. Comparación entre especies

A) Ulceraciones en el caparazón

Como se mencionó en los apartados anteriores, ningún individuo de los 187 capturados de la especie *P. hilarii* presentó ulceraciones en el caparazón, mientras que, del total de 229

tortugas obtenidas de *H. tectifera*, 52 de ellas presentaron algún grado de ulceración en su caparazón.

B) Lesiones en el caparazón

En cuanto a las lesiones no ulcerativas del caparazón, en los cursos cohabitados por ambas especies (Rodríguez, El Gato, Tubichamini y sectores B1 y B2 del Buñirigo, excluyendo al Carnaval donde se capturó solo un ejemplar de *P. hylarii*) hubo diferencias significativas entre las especies en las categorías “Ausencia de parte del caparazón” en los arroyos El Gato, Tubichamini y el sector B2 del Buñirigo, mientras que el tipo de lesión “Cicatriz” difirió entre ambas especies solo en los arroyos El Gato y el sector B2 del Buñirigo (Tabla 52). En todos los casos las medias correspondientes a *H. tectifera* resultaron significativamente mayores a las de la otra especie estudiada.

Tabla 52. Significancia para los test Mann-Whitney U entre especies por tipo de lesión y curso de agua. Los valores de p significativos se indican en negrita.

Tipo de lesión/ Arroyo	Rodríguez	El Gato	Tubichamini	B1	B2
Daño en queratina	0,08	0,46	0,96	0,23	0,17
Ausencia de parte del caparazón	0,27	0,0007	0,02	0,13	0,0001
Cicatriz	0,82	0,0001	0,09	0,76	0,0001

C) Índice de Condición Corporal (ICC)

Respecto al ICC, el análisis comparativo entre especies (excluyendo los cursos de agua donde sólo se capturó *H. tectifera*) resultó no significativo ($W= 21444$; $p= 0,52$).

D) Epibiontes

Respecto a la cobertura de algas, la especie *H. tectifera* presentó mayor proporción de individuos con algas sobre el caparazón respecto de *P. hylarii* en todos los cursos de agua

estudiados, pero más marcadamente en los A° Rodríguez, El Gato y Tubichamini. En el sector B1 del A° Buñirigo (B1) esta diferencia fue menor (Fig. 62).

A su vez, el análisis de asociación entre las variables presencia de algas sobre el caparazón y especie resultó significativo ($X^2=12,62$; $p= 0,0004$; $gl= 1$), al igual que entre nivel de cobertura de algas y especie ($X^2=56,23$; $p= <0,0001$; $gl= 4$).

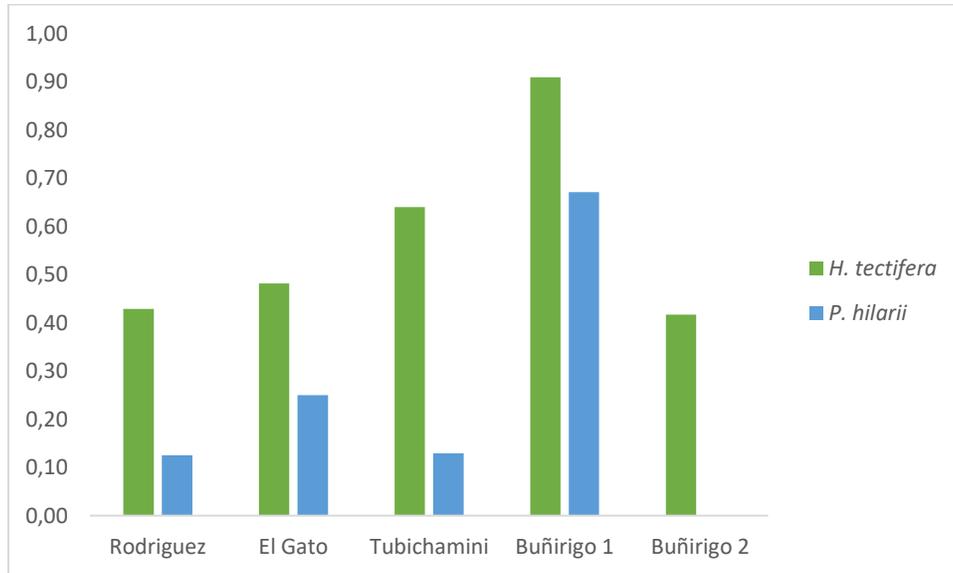


Fig. 62. Proporción de individuos con algas sobre el caparazón según arroyo y especie.

En cuanto a la fracción animal de epibiontes, hubo un evidente contraste entre las especies en todos los parámetros relacionados con en ese aspecto. Por un lado, la presencia de zooepibiontes se registró para *H. tectifera* en todos los arroyos cohabitados por ambas especies, mientras que para *P. hilarii* se observó solo en dos de ellos (Fig. 63). A su vez, en estos dos arroyos donde ambas especies presentaron zooepibiontes (Tubichamini y sector B1 del Buñirigo), la proporción de individuos con zooepibiontes fue marcadamente superior para *H. tectifera* respecto de la otra especie en ambos sitios. Por último, mientras que para *P. hilarii* se verificó solamente la presencia de temonocéfalos (huevos y adultos) y sanguijuelas, en *H. tectifera* se registraron otros 8 grupos taxonómicos más en la composición de los ensambles, totalizando 10 taxa diferentes.

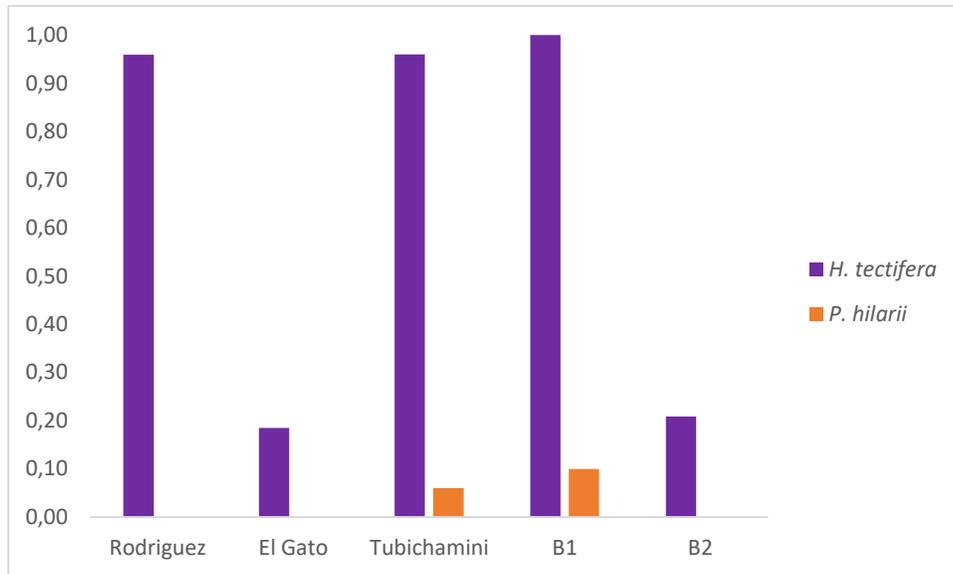


Figura 63. Proporción de individuos con zoeopibiontes sobre el caparazón según arroyo y especie.

2.4.4. Análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS)

El NMDS arrojó una ordenación espacial con tres grupos diferenciados (Fig. 64). Los agrupamientos más disimiles entre sí fueron el conformado por las *H. tectifera* con ausencia de úlceras en el caparazón y presencia de temnocéfalos (grupo a la izquierda de la Fig. 64) y el grupo de individuos que presentaron úlceras en el caparazón y ausencia de temnocéfalos (grupo a la derecha de la Fig. 64). En líneas generales, el primero de ellos incluyó casi la totalidad de individuos correspondientes a los arroyos menos impactados (Tubichamini y el sector 1 del Buñirigo) mientras que el otro agrupamiento estuvo conformado por las tortugas con úlceras procedentes de cursos de agua con mayor impacto (A° El Gato, Rodríguez y sector 2 del A° Buñirigo). El tercer agrupamiento (central en la Fig. 64) estuvo conformado por una minoría de individuos que presentaron tanto úlceras como temnocéfalos procedentes mayoritariamente de un arroyo con nivel de perturbación media (A° Carnaval). Los individuos de la muestra del A° Martín estuvieron distribuidos en los tres agrupamientos.

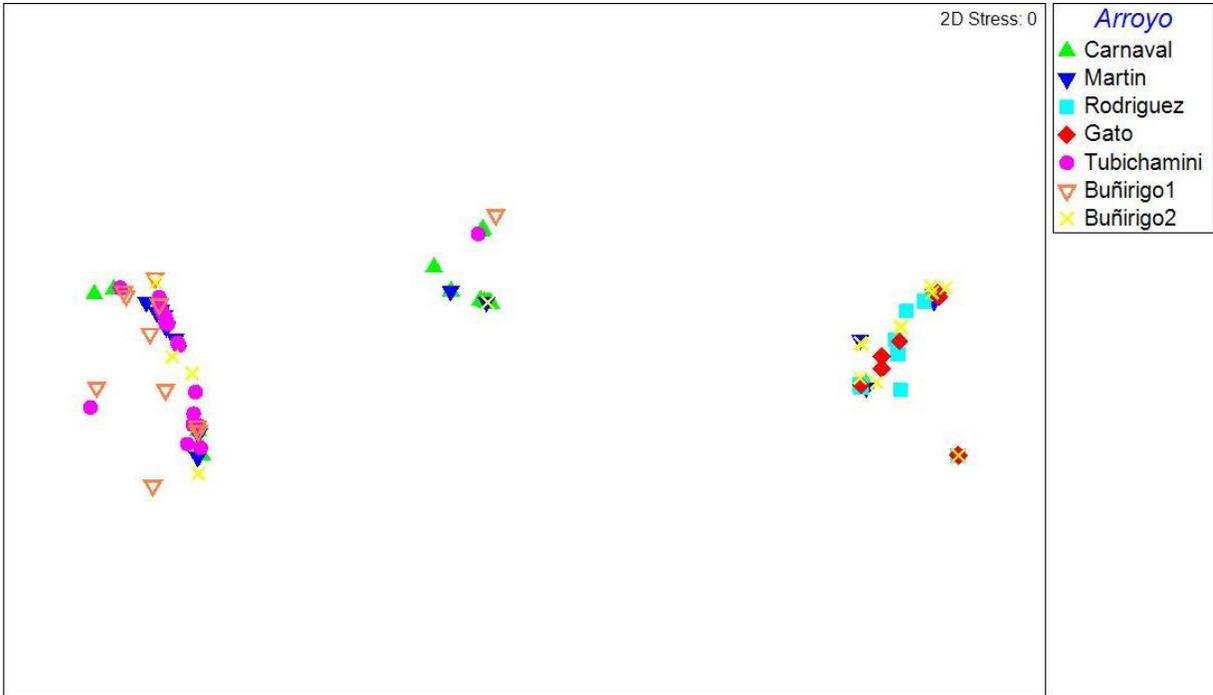


Figura 64. Ordenamiento en dos dimensiones de la similitud de las *H. tectifera* de los arroyos estudiados en base a la presencia de úlceras y temnocéfalos.

A modo de síntesis de los resultados obtenidos en el presente capítulo de la tesis se presenta la Tabla 53 donde se muestran los resultados más relevantes.

Tabla 53. Resultados más relevantes de los índices calculados para ambas especies por arroyo. U.S. (N.P.) = Uso del Suelo (Nivel de Perturbación); Esp.= especie, *H. t.*= *H. tectifera*, *P. h.*= *P. hilarii*; % IUC Me.= porcentaje de individuos dentro de la categoría “menor” según el Índice de Ulceración del Caparazón (IUC), % IUC Mod.= porcentaje de individuos dentro de la categoría “moderada” según IUC, % IUC A.= porcentaje de individuos dentro de la categoría “alta” según el IUC; IIR= Índice de Importancia Relativa, D.Q.= daño en queratina, A.P.C.= ausencia de parte del caparazón, C.= cicatriz, U.= úlcera; ICC= Índice de Condición Corporal (media \pm DE); P.A.= proporción de individuos con algas en el caparazón; IIR-T= Índice de Importancia Relativa de Temnocéfalos, H=huevos, A= adultos; M/H= machos/hembras.

Arroyo	U.S (N. P.)	Esp.	N	% IUC Me.	% IUC Mod	% IUC A.	IIR-D.Q.	IIR-A.P.C.	IIR-C.	IIR-U.	ICC	P. A.	IIR-T.	M/H
Carnaval	Agricultura Urbano (Medio)	<i>H. t.</i>	21	43%	5%	0%	58	8,7	25,1	8,2	0 (0,5)	0,52	H=73 A=21,9	2:1
		<i>P. h.</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Martín	Agricultura Urbano Industrial (Alto)	<i>H. t.</i>	20	10%	15%	5%	37	4,7	45,8	12,5	5 E-4 (0,06)	0,5	H=17,4 A=80,4	4:1
		<i>P. h.</i>	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rodríguez	Agricultura Urbano Industrial (Alto)	<i>H. t.</i>	49	14%	12%	0%	54,9	7,3	31,7	6,1	-2 E-4 (0,04)	0,43	0	1,13:1
		<i>P. h.</i>	8	-	-	-	79,1	3,5	17,4	0	1 E-3 (0,06)	0,13	0	1:1
El Gato	Agricultura Urbano Industrial (Muy alto)	<i>H. t.</i>	27	22%	7%	4%	35,6	15,3	12,9	36,2	-3 E-4 (0,04)	0,48	0	2:1
		<i>P. h.</i>	28	-	-	-	99,8	0,2	0	0	3 E-4 (0,05)	0,25	0	4,2:1
Tubichamini	Ganadería (Bajo)	<i>H. t.</i>	25	4%	0%	0%	93,4	6,6	0	0,05	0 (0,08)	0,64	H=63,2 A=36,5	1,88:1
		<i>P. h.</i>	31	-	-	-	99,6	0,1	0,2	0	3 E-4 (0,07)	0,13	0	2,06:1
Sector B1-Buñirigo	Ganadería (Bajo)	<i>H. t.</i>	11	0%	9%	0%	79,3	0,8	14,5	5,2	-9 E-4 (0,03)	0,91	H=86,8 A=11,6	1,75:1
		<i>P. h.</i>	70	-	-	-	99,5	0,03	0,5	0	3 E-4 (0,04)	0,67	H=97 A=0,25	1:1,06
Sector B2-Buñirigo	Ganadería Industrial	<i>H. t.</i>	24	38%	0%	4%	42,2	19	29,4	9,3	0 (0,04)	0,42	H=73,5 A=26,3	3,45:1

	Urbano recreativo (Alto)	<i>P. h.</i>	49	-	-	-	94,2	4,7	1,2	0	-8 E-4 (0,09)	0	0	1,39 :1
Sauce Grande	Ganadería Urbano (Bajo)	<i>H. t.</i>	12	0%	0%	0%	84,8	4,8	10,4	0	8 E-6 (3,9 E-4)	0,5	0	1:5
Tanti	Urbano (Bajo)	<i>H. t.</i>	20	5%	0%	0%	96,2	1	2,8	0	-5 E-4 (0,04)	0,55	0	2,33 :1
Toro Muerto	Turístico recreativo (Muy bajo)	<i>H. t.</i>	20	0%	0%	0%	87,8	0,3	11,9	0	1 E-5 (0,04)	0,25	0	1:1,86

2.5. Discusión

Los parámetros de condición sanitaria evaluados en las *H. tectifera* y *P. hilarii* que habitan una serie de arroyos con diferente impacto de contaminación arrojaron resultados contrastantes entre sus poblaciones, principalmente para la primera especie. Los resultados relativos a la prevalencia y severidad de úlceras en el caparazón, así como a la presencia y abundancia de temnocéfalos en *H. tectifera* van en línea con lo esperado según la condición de los arroyos de los que provienen las muestras: en los arroyos menos impactados se obtuvieron menor prevalencia y severidad de ulceraciones en el caparazón y mayor abundancia de temnocéfalos. El resto de los parámetros analizados (lesiones en el caparazón, índice de condición corporal y proporción de sexos) no arrojaron resultados tan claros en esa línea. En las siguientes secciones se discuten los resultados obtenidos para cada parámetro analizado.

2.5.1. Ulceraciones en el caparazón

En el presente estudio se registraron úlceras en ocho de las diez poblaciones de *H. tectifera* estudiadas, aunque con distinta prevalencia, siendo marcadamente mayor en los sitios de peor calidad ambiental. Los arroyos donde no se observó la enfermedad (A° Sauce Grande

y A° Toro Muerto) y en aquellos donde la prevalencia de la patología fue baja (5 % para Tanti, 4 % para Tubichamini y 9 % para el sector B1 del Buñirigo) tienen bajo o casi nulo impacto de origen antrópico (Tabla 53). En los arroyos con mayor impacto la prevalencia de ulceraciones fue claramente mayor: 26 % para el A° Rodríguez, 30 % para el A° Martín, 33 % para el A° El Gato, 42 % para el sector B2 del A° Buñirigo y 48 % en el A° Carnaval (Fig. 52). Las cuencas del Gran La Plata (Carnaval, Martín, Rodríguez y El Gato) se encuentran afectadas mayormente por agricultura y horticultura intensiva en sus nacientes y por contaminación urbana y, en la mayoría de los casos (El Gato, Martín, Rodríguez) por vertidos de distintas industrias mientras que el sector B2 del A° Buñirigo (Partido de Magdalena) recibe vertidos de origen industrial. En tal sentido, aunque con prevalencias distintas a las que intuitivamente se esperaba, los resultados obtenidos verifican la hipótesis de que existe una relación entre la calidad del agua y la presencia de la enfermedad ulcerativa del caparazón, siendo su prevalencia mayor en las poblaciones de *H. tectifera* que habitan cursos de agua con mayor impacto ambiental respecto de los arroyos menos disturbados. Debe destacarse que la prevalencia más alta se obtuvo en el arroyo urbano presumiblemente menos impactado de los cuatro estudiados en el Gran La Plata (A° Carnaval), cuyas tortugas quedaron mayormente incluidas en la categoría de ulceración “menor”. En otras palabras, si bien la prevalencia de úlceras fue la más alta en este arroyo (por cantidad de tortugas ulceradas), la severidad de las mismas resultó leve en todos los casos. Esto puede deberse a que esta cuenca es la única de las estudiadas del Gran La Plata que no recibe vertidos industriales (lo que tal vez explique la menor severidad de las úlceras), aunque sí cuenta con una densidad de viviendas linderas entre moderada y alta en el tramo medio, donde se practican vertidos cloacales y domiciliarios de composición desconocida (probablemente suficientes para explicar la existencia de úlceras leves). A su vez, el NMDS basado en la presencia de úlceras y temnocéfalos ubicó espacialmente a la mayoría de las tortugas del A° Carnaval en una posición intermedia entre las provenientes de los cursos de agua más impactados y los de menor impacto (Fig. 64), por contar con úlceras en el caparazón, pero también con temnocéfalos, parámetro que indica una mejor calidad ambiental (ver más adelante). Esto va en consonancia con estudios comparativos entre los arroyos de la zona basados en

parámetros fisicoquímicos y biológicos los que determinaron alteraciones en todos los casos, aunque con una mejor calidad ambiental en el A° Carnaval respecto del resto (López Van Oosterom et al. 2015, Lavarías et al. 2017, Rodrigues Capítulo A. et al. 2020). Así mismo, las tortugas que presentaron úlceras con mayor grado de severidad provinieron de los arroyos Martín, El Gato y sector B2 del Buñirigo (Fig. 53), lo cual es esperable debido a la mala calidad ambiental que padecen estos arroyos (Mercado 2000, Gómez y Licursi 2001, Rodrigues Capítulo et al. 2001, Bauer et al. 2002, Ocón y Rodrigues Capítulo 2012, Sierra et al. 2013, Solis et al. 2017). Dentro de estos casos de mayor gravedad hubo dos tortugas (una del A° Martín y otra del sector B2 del A° Buñirigo) que además presentaron ulceraciones en otras partes del cuerpo (ej. la cabeza) y ostentaban mal estado general (aletargamiento y sin reacción a estímulos externos). Estos ejemplares con peor condición fueron hallados fuera del agua, un comportamiento poco frecuente en esta especie, e invariablemente murieron luego de pocas semanas a partir de su captura

Por otro lado, en contraposición a lo que se esperaba, las hembras no resultaron significativamente más afectadas por la presencia de úlceras que los machos. No obstante, en la mayoría de los arroyos se verificó una tendencia a una mayor afectación en las hembras, cuya significancia dependa probablemente de mayores grados de libertad en las muestras. Contrariamente a lo descrito para *H. tectifera*, la presencia de úlceras en el caparazón no se verificó en ningún individuo de *P. hylarii* de todos los arroyos estudiados. Si bien ambas especies difieren en el uso del hábitat, cohabitan en la mayoría de los arroyos donde se registró la patología para *H. tectifera*. Esto indica fehacientemente que, frente a un mismo escenario ambiental, la enfermedad se manifiesta afectando únicamente a *H. tectifera*, comprobándose así otra de las hipótesis planteadas en la presente tesis y muy probablemente en relación con el modo de locomoción y asoleamiento que practica cada especie (ver Capítulo 4).

En las últimas décadas se ha documentado una serie de efectos adversos de distintos contaminantes ambientales (pesticidas, herbicidas, metales pesados, etc.) a nivel celular y fisiológico sobre diversas especies de tortugas acuáticas, tanto marinas como de agua dulce. De algunos de los herbicidas comúnmente utilizados en la práctica agrícola (varios de ellos

registrados en el A° Carnaval y probablemente presentes en los restantes arroyos del Gran La Plata), la atrazina tiene efectos inmunosupresivos como reducción en el número total de leucocitos y de su actividad fagocitaria (Soltanian 2016), y el glifosato provoca stress oxidativo evidenciado por la expresión y actividad de las enzimas involucradas en la detoxificación oxidativa (Héritier et al. 2017), altera el desarrollo de la microbiota del tracto digestivo lo que repercute negativamente en la digestión y el estado de salud general de las tortugas (Kittle et al. 2018), y produce anomalías nucleares en los eritrocitos, con potenciales efectos mutagénicos (de Oliveira et al. 2020). Además, en diversos estudios realizados en tortugas dulceacuícolas provenientes de zonas agrícolas y urbanas (da Silva et al. 2008, Yu et al. 2012, Meyer et al. 2013, Venancio et al. 2013, Namroodi et al. 2018) se detectaron efectos subletales tales como inhibición de la actividad enzimática de la colinesterasa, alteraciones hematológicas en número y forma celulares y presencia de micronúcleos, entre otros, siempre ligados a la presencia de contaminantes ambientales (plaguicidas, metales pesados, PCBs, etc.). Por lo tanto, los daños que generan los distintos contaminantes presentes en los ecosistemas acuáticos sobre la fauna son múltiples y diversos, siendo por lo general complejo establecer relaciones directas entre un contaminante específico y su respectivo efecto en los organismos provenientes de poblaciones naturales. De hecho, cada curso de agua funciona como un sistema complejo, con características propias en el que coexisten numerosos tóxicos orgánicos e inorgánicos provenientes de fuentes diversas, los que incluso pueden actuar de manera sinérgica y con otros estresores (ej. patógenos; Kelly et al. 2010, Goodman et al. 2021), deteriorando la calidad sanitaria de las poblaciones animales que allí habitan. En lo que respecta a la enfermedad ulcerativa del caparazón, no existe total certeza sobre cuál es el agente que origina las ulceraciones, pero se presume que una baja calidad ambiental asociada con la presencia de contaminantes en el agua constituye un escenario favorable para su persistencia y desarrollo (Lovich 1996, Garner 1997, Hernandez-Divers et al. 2009, Bishop et al. 2010), lo cual se vio reflejado en los resultados obtenidos en el presente estudio.

Por último, este estudio representa el primero en registrar la enfermedad ulcerativa del caparazón para la especie *H. tectifera*.

2.5.2. Lesiones en el caparazón

En cuanto a las lesiones no ulcerosas en el caparazón, todas las categorías estuvieron presentes en ambas especies, pero con diferencias entre poblaciones en el porcentaje del caparazón ocupado por cada tipo de lesión. Los resultados del IIR (Índice de Importancia Relativa) determinaron que “Daño en queratina” fue la lesión de mayor importancia para ambas especies en casi todos los arroyos estudiados. Esto es esperable dado que los roces y colisiones del caparazón contra superficies duras en el ambiente son probables de ocurrir en arroyos con fondo duro natural en arroyos serranos (roca, canto rodado) o artificial en arroyos urbanos (ej., revestimientos de cauces con concreto, gran cantidad de desechos sólidos como carrocerías de vehículos, gabinetes de motores, escombros, botellas rotas, alambres). Estos daños superficiales, que pueden producirse por el roce cotidiano con estos sustratos, en principio no afectan la integridad física de las tortugas, pero pueden representar la puerta de ingreso a agentes patógenos y devenir en úlceras y enfermedad ulcerativa dependiendo de la especie (modos de locomoción y asoleamiento) y de la calidad del ambiente (impactado-no impactado). Por otro lado, en los análisis estadísticos comparativos de las poblaciones de *H. tectifera*, los valores más altos de la categoría “Daño en queratina” se verificaron en los A° Tanti y Carnaval. La gran cantidad de lesiones de este tipo verificada para el A° Carnaval explica en parte que éstas deriven en úlceras leves (por el ambiente moderadamente impactado, según estudios citados anteriormente) cuestión que se minimiza por la mejor calidad ambiental presente en el A° Tanti.

En lo que respecta al tipo de lesión “Ausencia de parte del caparazón”, muchas veces resulta complejo determinar el origen de tales ausencias. En algunos casos, pueden explicarse por eventos de predación por cánidos (zorros en ambientes rurales o perros en zonas urbanas y rurales), o por caídas desde altura sobre sustratos duros en ejemplares que retornan al agua luego de excursiones terrestres, tal como se ha descrito en la literatura (Mitchell 1988, Farrell y Graham 1991, Garber y Burger 1995). Estas causas operan mayormente sobre las hembras, que son las que suelen hacer excursiones terrestres con fines de oviposición. En el presente estudio, los resultados obtenidos para *H. tectifera* ubican el mayor valor para la lesión “Ausencia de parte del caparazón” en la población del sector B2 del A° Buñirigo. En

la mayoría de los casos, las porciones faltantes del caparazón observadas en esta población probablemente se originaron a partir de ulceraciones severas en los márgenes del mismo, las que produjeron pérdida total de placas óseas y corneas. Esto se desprende de la forma circular del área faltante y a que, por lo general, los mismos individuos en los que faltan porciones de placas periféricas también presentaron cicatrices de ulceraciones ya curadas. A su vez, la categoría de lesión “Cicatriz” también fue más alta para esta misma población y para *H. tectifera* del A° Carnaval. En ambos arroyos estas cicatrices se corresponden mayormente a ulceraciones curadas.

Para la otra especie, *P. hilarii*, el valor más alto para las categorías de lesión “Ausencia de parte del caparazón” y “Cicatriz” se obtuvo para la población del A° Rodríguez. En este caso, las partes faltantes de caparazón se asociaron mayormente con mordeduras de perros, lo que se dedujo principalmente por su forma. Estos eventos son capaces de identificarse dado que dejan marcas aserradas características en los márgenes del caparazón que muchas veces vienen acompañadas por la pérdida parcial del miembro próximo a la herida (generalmente del autopodio). En arroyos urbanizados como el A° Rodríguez, donde hay una importante densidad de perros que viven en los barrios linderos al cauce, es común que las tortugas sufran este tipo de daños durante sus excursiones terrestres. Además, tal como se mencionó anteriormente, *P. hilarii* no mostró ulceraciones en el caparazón, por lo que las porciones faltantes del mismo no podrían tener tal origen, como se infirió para *H. tectifera* (además de la forma diferente que presentaron estas porciones). Por otro lado, también es frecuente que los individuos presenten fracturas en el caparazón producto de caídas desde sitios altos, como sucede en algunos sectores del A° Rodríguez cuyos márgenes están perfilados artificialmente a modo de paredes, por donde las tortugas pueden caer en su regreso al agua. En muchos casos, estas fracturas se evidencian por hendiduras en la parte media del caparazón, y en los escudos marginales se observan porciones que, posteriormente a su fractura, permanecen unidas y cicatrizan de manera irregular. En un estudio realizado en *Phrynops williamsi* se describen lesiones similares asociadas a caídas en cursos de agua sumamente modificados del sur de Brasil (Kunz et al. 2018).

2.5.3. Índice de Condición Corporal (ICC)

Contrariamente a lo esperado, no existieron diferencias en el ICC entre las poblaciones de los distintos arroyos estudiados para ninguna de las dos especies. Esto indicaría que la calidad ambiental no tendría una influencia directa en la condición corporal de los individuos como sí ha sido documentado en otros estudios (Beau y Brischoux 2021, Mota et al. 2021). En este sentido, si bien son numerosas las consecuencias negativas que provoca la degradación ambiental en poblaciones de tortugas, algunas especies parecen tener mayor tolerancia y capacidad de adaptación, lo que les permite tomar ventaja de ciertas condiciones asociadas a la urbanización (como la presencia permanente de agua, mayores temperaturas y la disponibilidad de alimento que viene con los residuos humanos) y por ello suelen presentar gran abundancia en tales sitios (Souza y Abe 2000, Plummer et al. 2008, Germano 2010, Roe et al. 2011, Ferronato et al. 2017, Bowne et al. 2018, entre otros). Una situación similar se observó en la población de *H. tectifera* del A° Rodríguez (Semeñiuk et al. 2019, Palumbo et al. 2021, presente estudio y trabajos en curso del grupo de trabajo) donde se constata una abundancia sumamente superior comparada con la de otros arroyos vecinos, incluso aquellos con mejores parámetros ambientales. Algo similar sucede en las *P. hilarii* del A° El Gato (presente tesis). De igual manera, existen estudios en los que incluso se obtuvieron mayores valores de condición corporal en tortugas que habitaban ambientes alterados respecto de tortugas provenientes de áreas no impactadas (Failey et al. 2007, Bondi y Marks 2013, Polo-Cavia et al. 2010, Hassani et al. 2019). Sin embargo, algunas veces esto podría llevar a interpretaciones desacertadas en cuanto al estado de salud de la población, principalmente cuando se consideran parámetros morfométricos como la condición corporal como único indicador de condición. En el estudio realizado por Polo-Cavia et al. (2010), se obtuvo que las *Emys marmorata* provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales presentaban indicadores de inmunodepresión a pesar de exhibir mayor condición corporal que las tortugas que vivían en ambientes preservados. Los autores sugieren que algunos aspectos que pueden aparentar mejor estado de salud (ej. mayor tamaño) no se correlacionan necesariamente con una mejor condición de salud de los individuos.

El ICC resultó positivo para las hembras y negativo para los machos para prácticamente todas las poblaciones de ambas especies (a excepción de las *P. hilarii* del A° El Gato, en las que fue a la inversa), siendo en algunos casos significativamente diferente. Esto es esperable debido a la mayor demanda energética por parte de las hembras para la producción de huevos que también se evidencia en el leve dimorfismo sexual que presentan ambas especies, siendo las hembras algo más grandes que los machos, más marcadamente en *P. hilarii* que en *H. tectifera* (Tortato 2007, da Silva Lucas et al. 2020, Alcalde et al. 2020). Por otra parte, también en contraposición a lo esperado, no solo no hubo diferencias significativas entre los individuos de *H. tectifera* con y sin ulceraciones en el caparazón para casi todas las poblaciones estudiadas de la especie, sino que, en tres de ellas (arroyos Martín, Rodríguez y El Gato), el ICC medio de las tortugas ulceradas incluso resultó mayor que el de las tortugas no ulceradas, siendo esta diferencia significativa solo en la población del A° Martín. Es evidente que presencia de la enfermedad ulcerativa del caparazón no tiene un efecto directo en el peso corporal de las tortugas, al menos en estados tempranos de la misma. Sería interesante para ello realizar estudios prolongados en el tiempo en los cuales evaluar diferencias en el ICC en tortugas enfermas por ulceraciones durante el transcurso de distintas etapas de la enfermedad.

2.5.4. Epibiontes

Los resultados obtenidos en el presente estudio en cuanto a la prevalencia y porcentaje de cobertura de algas sobre el caparazón de las tortugas capturadas fueron contrastantes entre las poblaciones de ambas especies de todos los arroyos estudiados. Para *H. tectifera* la presencia de algas se registró en todos los arroyos estudiados, pero su prevalencia fue comparativamente mayor en el A° Tubichamini y el sector B1 del Buñirigo. En el caso de *P. hilarii* las algas estuvieron presentes en casi todos los arroyos estudiados, pero con prevalencia mayor en el sector B1 del A° Buñirigo. Además, en ambas especies la cobertura de algas también resultó significativamente mayor en las tortugas del mencionado sector del Buñirigo.

Existe amplia bibliografía en lo que respecta al desarrollo de algas sobre el caparazón de las tortugas, principalmente referida a especies del hemisferio norte y Australia (Edgren et al.

1953, Gibbons 1968, Garbary et al. 2007, Burgin y Renshaw 2008, Bury et al. 2015, entre otros). La mayoría de los estudios coinciden en que las especies que crecen exclusivamente en caparazones de tortugas son clorófitas del género *Basycladia*. Para las especies aquí tratadas se cuenta con el registro de la especie *Basycladia chelonum* documentada para el caparazón de *H. tectifera* procedente del sur de Brasil (Semir et al. 1988). La descripción que se brinda en el mencionado estudio hace suponer que se trata de la misma especie que se observó en ambas especies de tortugas aquí analizadas.

En cuanto a la composición del ensamble de zoopibiontes, en el presente estudio se registró un total de 15 taxa sobre el caparazón de *H. tectifera*, coincidiendo mayormente con lo reportado previamente para un ejemplar de la especie capturado en el sur de Brasil (Huckembeck y Quintela, 2013). Aquí se agregan dos familias de gasterópodos acuáticos nativos (Ancyliidae y Physidae) y una exótica (Viviparidae: *Sinotaia quadrata*) y, sin mayor determinación taxonómica, los grupos Oligochaeta, Nematoda (vida libre), Bivalvia, Copepoda, Ephemeroptera y Coleoptera. Los arroyos que presentaron las mayores cantidades de grupos taxonómicos en los ensambles de zoopibiontes sobre *H. tectifera* fueron Tubichamini y Carnaval, en ese orden. Si bien el primero de ellos es un curso de agua mayormente conservado y con mejor condición ambiental, el segundo, como se mencionó párrafos más arriba, es un arroyo urbano con impacto moderado. Ambos comparten la presencia de una importante cobertura de macrófitas, las que configuran microhábitats que favorecen la diversidad de invertebrados acuáticos (Feijoó y Menéndez 2007, Rodrigues Capítulo et al. 2020).

Más allá de la cantidad de grupos taxonómicos que presentó el ensamble de cada población estudiada de *H. tectifera*, el género *Temnocephala* (*T. brevicornis*) fue el que más se destacó por diferentes razones. Por un lado, éste fue el de mayor importancia según en IIR para todos los ensambles en que estuvo presente. Además, en términos de abundancia, el análisis SIMPER demostró que este grupo fue el que mayor contribución tuvo a la disimilitud entre los ensambles de las poblaciones estudiadas. Por otro lado, es interesante destacar que en los sitios de peor calidad ambiental o bien este grupo no estuvo presente (Rodríguez y El Gato), o bien su abundancia fue comparativamente menor (sector B2 del Buñirigo y

Martín), mientras que en los de mejor calidad ambiental tuvieron una abundancia extremadamente alta (Tubichamini y sector B1 del Buñirigo). En estos casos se observó una cobertura densa y continua de huevos y adultos de la especie, la que ocupaba casi toda la superficie del caparazón ventral de las tortugas, y ocasionalmente también del espaldar, aunque de manera más difusa. A su vez, el A° Carnaval nuevamente presentó una situación intermedia dado que, si bien la abundancia de temnocéfalos no resultó comparable a la de los arroyos menos impactados, fue a la vez muy superior a los valores de abundancia que se obtuvieron en los sitios más impactados. Una situación similar fue documentada por Mascarenhas et al. (2018) en poblaciones de *Trachemys dorbigni* habitando zonas urbanas y rurales del sur de Brasil: *Temnocephala* estuvo presente solo en las tortugas de las zonas rurales, con condiciones ambientales marcadamente mejores que las urbanas. Los autores atribuyen sus resultados al efecto que pueden tener la mala calidad del agua no solo sobre los temnocéfalos sino sobre otros organismos de los cuales éstos se alimentan (entre ellos bacterias, protozoos, diatomeas y rotíferos). Los platelmintos de vida libre suelen tener estrecha relación con las características físico-químicas del ambiente y en general viven en sitios ricos en oxígeno, con temperaturas medias, pH ácido y baja conductividad (Noreña et al. 2004). Si bien muchos de ellos tienen capacidad de resistir a cambios temporarios, muchos otros son más sensibles y desaparecen frente a determinadas condiciones ambientales, por lo cual a nivel de especie pueden ser buenos indicadores de calidad del agua. En tal sentido, es muy probable que los resultados obtenidos en el presente estudio en cuanto a la presencia y abundancia de *Temnocephala* estén relacionados con la diferente calidad del agua de los arroyos estudiados más que con la abundancia de los ítems que constituyen su dieta. Por otra parte, la ausencia de temnocéfalos en los arroyos serranos (Sauce Grande, Tanti y Toro Muerto) con buena calidad ambiental estudiados en la presente tesis seguramente se deba a rasgos morfológicos de esos arroyos (caudal, sustrato rocoso, transparencia, dureza del agua, entre otros).

En cuanto a la especie *P. hilarii*, similarmente a *H. tectifera*, se detectó la presencia de temnocéfalos para las poblaciones de los arroyos menos impactados (Tubichamini y sector B1 del A° Buñirigo) y en el único individuo del A° Carnaval, aunque con una prevalencia y

cobertura mucho menores en todos los casos, seguramente asociado con los hábitos de la especie (ver más abajo). Respecto a la presencia de zooepibiontes en *P. hilarii*, solo se conoce el registro de temnocéfalos para especímenes provenientes del A° Tubichamini (Martínez-Aquino et al. 2014). Se agrega en el presente estudio el registro de *Temnocephala brevicornis* para los arroyos Buñirigo (sector B1) y Carnaval, y de sanguijuelas (A° Tubichamini y sector B1 del A° Buñirigo), sin determinación específica.

Por otra parte, también hubo resultados contrastantes entre ambas especies con una mayor prevalencia de ambas fracciones de epibiontes para *H. tectifera* respecto de *P. hilarii*, para todos los arroyos estudiados. Esto probablemente guarde relación con el modo de asoleamiento aéreo que practica la segunda especie, lo que colabora con mantener el caparazón seco y en consecuencia limpio y libre de microorganismos que no toleran periodos variables de exposición diaria al sol. Por otra parte, las tortugas de esta misma especie que presentaron proporcionalmente mayor cobertura de algas (sector B1 del A° Buñirigo) fueron en promedio individuos pequeños (media LRC de tortugas con algas= 167 mm; media LRC poblacional= 185 mm) o muy pequeños (media LRC= 138 mm), los que presentaron cobertura de algas incluso en el caparazón ventral. Similar resultado se obtuvo para los individuos de *P. hilarii* que presentaron cobertura de temnocéfalos (media LRC= 141 mm). Si bien el asolamiento aéreo es practicado tanto por adultos como por juveniles, el hecho de salir del agua representa un peligro mayor para los últimos, al quedar expuestos a posibles predadores terrestres. En un estudio sobre asolamiento realizado en la población de *P. hilarii* del sector B2 de este mismo arroyo (Semeñiuk y Alcalde 2017) se constató que existe un uso diferencial del sustrato entre las tortugas grandes (>200 mm) y las pequeñas (<200 mm): los adultos usan tanto orillas como troncos, mientras que las pequeñas suelen hacerlo principalmente sobre troncos, probablemente porque éstos otorgan una vía de escape más rápida y una menor exposición a predadores. Quizás la mayor prevalencia de algas sobre el caparazón en los individuos pequeños del sector B1 del A° Buñirigo radique en la menor disponibilidad de sustratos seguros donde practicar asoleamiento: este sector está dominado por pastizal, casi sin cobertura arbórea ni troncos caídos dentro del cauce. Por esta

razón, puede ser que los individuos más pequeños pasen mayor tiempo dentro del agua, asoleándose en aguas someras y favoreciendo el desarrollo de algas sobre su caparazón. Por último, paradójicamente en los sitios donde la cobertura de epibiontes (tanto algas como temnocéfalos) fue mayor en ambas especies también hubo baja prevalencia de daños en el caparazón. Es altamente probable que el entramado que conforman estos organismos sobre el caparazón de las tortugas actúe como barrera física frente a elementos del ambiente que puedan ocasionar daños en la superficie del mismo. Esto se ve más marcado en *H. tectifera* en la cual la cobertura de epibiontes es más extensa y abundante asociado a su hábito de no salir fuera del agua para practicar asoleamiento. De ser así, podría decirse que la relación que existe entre la tortuga y los epibiontes no solo no es perjudicial (como muchos autores sugieren acerca de los epibiontes en general para distintas especies de tortugas) sino que, por el contrario, resultaría beneficiosa para aminorar el efecto que pueden generar los roces del caparazón contra distintos objetos presentes en el ambiente, configurando así una suerte de mutualismo.

2.5.5. Proporción de sexos

Por último, en lo que respecta a la proporción entre sexos, los resultados obtenidos en este estudio arrojaron desviación significativa en favor de los machos para las *H. tectifera* de los arroyos Martín, Tubichamini y el sector B2 del Buñirigo, así como para la población de *P. hiliarii* de los arroyos El Gato y Tubichamini, y en favor de las hembras únicamente para la población de *H. tectifera* del A° Sauce Grande, mientras que no hubo desviación significativa respecto de la relación entre sexos esperada 1:1 en las restantes poblaciones estudiadas. En primer lugar, se había planteado la hipótesis de que la enfermedad ulcerativa del caparazón afectaba de forma diferencial a ambos sexos (influyendo en la proporción de sexos), siendo las hembras las más afectadas, pero la misma fue descartada al no encontrarse relación significativa entre prevalencia de la enfermedad y sexo. De haberse comprobado, esta hipótesis habría sido una explicación plausible para la mayor proporción de machos observada en las poblaciones de *H. tectifera* de los arroyos más impactados (Martín y sector B2 del Buñirigo), pero, contrariamente a lo esperado, lo mismo se obtuvo en el A° Tubichamini, donde la prevalencia de la enfermedad fue muy baja, y en las poblaciones de los A° El

Gato y Tubichamini de *P. hilarii*, en cuya especie no se registró la enfermedad. Por consiguiente, es probable que otra/s variable/es estén operando sobre estas poblaciones influyendo en la desproporción de sexos obtenida. Como se describió al principio de este capítulo, existe una amplia bibliografía respecto del estudio de la proporción de sexos en numerosas poblaciones de tortugas dulceacuícolas de diferentes regiones, aunque es escasa para las especies analizadas en esta tesis. Los únicos estudios previos que analizan la proporción de sexos para *H. tectifera* se realizaron en las poblaciones del A° Rodríguez (Semeñiuk et al. 2019) y el A° Toro Muerto (Lescano et al. 2008), cuyos resultados coinciden con los obtenidos en el presente estudio para esos sitios, no habiendo desviación significativa respecto de la relación entre sexos esperada 1:1. En ambientes urbanizados, una de las principales causas de los desbalances en la proporción de sexos es la muerte diferencial de las hembras debido a su mayor exposición en sus salidas al ambiente terrestre. No debería descartarse la posibilidad de que esto esté ocurriendo en los arroyos urbanos del Gran La Plata donde se capturaron más cantidad de machos (Martín para *H. tectifera* y El Gato para *P. hilarii*), debido a que estos cursos de agua atraviesan calles altamente transitadas, incluso importantes caminos de acceso a la ciudad (Caminos Centenario y Gral. Belgrano, y Autopista La Plata-Bs. As.).

Por otra parte, en áreas geográficas con estacionalidad marcada, el momento del año en que se realizan los muestreos resulta relevante para el estudio de relación entre sexos. En la mayoría de las especies de tortugas dulceacuícolas, las hembras suelen estar mayormente activas durante el período de puesta (finales de la primavera a principios del verano), mientras que los machos generalmente presentan mayor actividad en los períodos de reproducción (fines del invierno a principios de la primavera), dado que se encuentran en búsqueda de pareja (Lescano et al. 2008, Alcalde et al. 2021). Esto fue documentado para *H. tectifera* por Lescano et al. (2008) en el A° Toro Muerto, quienes obtuvieron una mayor proporción de machos durante el invierno. Si bien la actividad diferencial de machos y hembras durante el ciclo anual puede explicar la proporción de sexos en favor de las hembras obtenida en el presente estudio para las *H. tectifera* del A° Sauce Grande, la búsqueda activa diurna y nocturna que se realizó durante los muestreos (complementado con técnicas

pasivas: espineles y trampas) tienden a disminuir los posibles sesgos atribuibles a la actividad de las tortugas. Por otro lado, al tratarse de la población más austral de la especie, la temperatura podría ser un factor a tener en cuenta para explicar la desviación de sexos observada, ya que en muchas especies de tortugas la determinación del sexo depende de la temperatura de los nidos (Ewert et al. 1994, Janzen 1994, Valenzuela y Lance 2004). Sin embargo, la mayoría de los chélicos, incluso géneros cercanos a *Hydromedusa* (Mazzoleni et al. 2020, Viana et al. 2022), tienen determinación genética del sexo (Valenzuela y Lance 2004). A pesar de que en *H. tectifera* no se observaron cromosomas sexuales heteromórficos (Noletto et al. 2006), probablemente sea necesario aplicar técnicas citogenéticas de mayor resolución debido a la muy baja diferenciación de los cromosomas sexuales en esta familia (Thépot 2021). En consecuencia, evidentemente existen causas posteclosión que están operando negativamente sobre los machos en la población del A° Sauce Grande. Por último, si bien el número de ejemplares que se alcanzó para este curso de agua fue bajo, el esfuerzo empleado fue equivalente o aún mayor que en la mayoría de los demás sitios estudiados (Tabla 2), para los cuales se logró, o incluso superó, el N mínimo propuesto. Por lo tanto, es evidente que *H. tectifera* no tiene una alta abundancia en la sección estudiada del A° Sauce Grande como lo es en otros cursos de agua.

Entonces, puede decirse que los desbalances en la proporción de sexos que se producen en las poblaciones naturales de las tortugas dulceacuícolas deben analizarse dentro de sus contextos particulares, evitando reducir las explicaciones a una única variable influyente. Es probable que en la mayoría de los casos exista un conjunto diverso de factores tanto ambientales (ej. presencia de contaminantes, urbanización) como específicos (ej. comportamentales, dimorfismo sexual) que sean los determinantes de tales desviaciones.

Como fue mencionado al principio de esta tesis, las dos especies de tortugas dulceacuícolas aquí estudiadas no se encuentran catalogadas bajo ningún grado de amenaza a nivel nacional (Prado et al. 2012) ni internacional (Rhodin et al. 2021), principalmente a causa de su distribución amplia y su alta abundancia en muchas localidades, y a que no suelen ser explotadas para mascotismo. A su vez, de acuerdo a lo observado en este y otros estudios

(Alcalde et al. 2010, Semeñiuk et al. 2019, Semeñiuk et al. 2020), ambas especies muestran versatilidad en los ambientes que ocupan y la calidad del agua no parece ser un factor determinante de su presencia y/o abundancia, estando adaptadas a habitar sitios fuertemente contaminados, como los A° El Gato y Rodríguez. No obstante, según los resultados más relevantes aquí obtenidos, las tortugas de *H. tectifera* provenientes de los cursos de agua de peor calidad tuvieron mayores prevalencia y severidad de úlceras en el caparazón, y no presentaron temnocéfalos (organismos muy sensibles a la calidad del agua) en la composición del zooepibiontes (o la abundancia de este taxón fue claramente menor). Esto último también se observó para las poblaciones de *P. hylarii*, aunque menos marcado que en la otra especie. Por lo tanto, la información obtenida indica que, a pesar de estar presentes e incluso con abundancia alta, las tortugas de ambientes más impactados presentaron ciertos parámetros que demuestran un peor estado sanitario respecto de las de arroyos de mejor calidad. En tal sentido, sería relevante llevar a cabo monitoreos a largo plazo, con foco en las poblaciones de los cursos de agua más impactados, que brinden información continua y actualizada sobre el estado sanitario en que se encuentran las poblaciones, considerando además otros parámetros relacionados (ej. presencia de contaminantes en sangre, biomarcadores) así como demográficos. De esta manera, sería posible detectar de forma temprana otras alteraciones o efectos asociados a la condición ambiental, con el fin de contribuir con la toma de medidas que mitiguen el avance del deterioro de los ecosistemas acuáticos. Si bien estas especies, al igual que otros chélidos (Souza et al. 2008, Rees et al. 2009, Venancio et al. 2013, Ferronato et al. 2017), están adaptadas a vivir en ambientes urbanizados con altos niveles de contaminación, no debe descartarse que el permanente stress al que están sometidas pueda conducir en un futuro a reducciones poblacionales, o incluso a la desaparición de las especies en cursos de agua determinados.

Por otro lado, el tipo de daño no ulcerativo más frecuente en el caparazón de ambas especies en todos los arroyos estudiados fue “daño en queratina”. Esto resultó más marcado en *H. tectifera*, probablemente por tratarse de una especie caminadora de fondo más que de hábito nadador como *P. hylarii*, por lo que los roces con elementos duros del sustrato suelen ser habituales. Si bien estos daños superficiales no atentan a la integridad física de las

tortugas, en condiciones de mala calidad de agua, pueden actuar como sitio de ingreso de patógenos y así evolucionar a lesiones más severas y úlceras. Por ello, resultaría de suma importancia, por un lado, remover la gran cantidad de objetos de descarte que se depositan en el lecho de los arroyos (más comúnmente en los urbanos) como botellas rotas, escombros, plásticos, fierros, neumáticos y motores de automóviles, por nombrar solo algunos. Esta medida debería ejecutarse principalmente en los cursos de agua de peor calidad donde los daños en el caparazón pueden cobrar mayor relevancia. Por otro lado, desalentar a la comunidad a descartar este tipo de elementos en los cauces de los arroyos a través de comunicación y difusión de información clara y relevante sobre los efectos de esta práctica, y promover vías alternativas de descarte para tales elementos, que no resulten perjudiciales para las tortugas y el ecosistema en general.

Concluyendo, frente al creciente deterioro de los ecosistemas acuáticos y dado el rol ecosistémico que ocupan las tortugas dulceacuícolas, su longevidad y fidelidad a los sitios donde habitan, el estudio de sus poblaciones resulta de suma importancia no solo para la conservación de estas especies sino también como indicador de la calidad del ambiente que ocupan.

Capítulo 3. Parámetros hematológicos en *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hiliarii*

3.1. Introducción

La evaluación microscópica de la sangre periférica provee información rápida y valiosa sobre las condiciones fisiológicas y sanitarias de un individuo, así como una mayor identificación de ciertos procesos patológicos (Strik et al. 2007). La mayoría de los agentes infecciosos provoca una respuesta inflamatoria en los tejidos afectados, que a su vez resultan en cambios específicos de la sangre periférica: anemia, leucopenia, leucocitosis, linfocitosis, entre otros indicadores no específicos de respuestas inflamatorias crónicas (Stacy et al. 2011). Asimismo, otros factores como el stress y la presencia de contaminantes ambientales pueden generar alteraciones en los parámetros hematológicos. Por ello, los hemogramas de rutina básicos incluyen conteos celulares totales (glóbulos rojos y blancos), conteo diferencial o perfil leucocitario y evaluación morfológica de las células sanguíneas (Campbell 2006). Esta información resulta clave para definir parámetros útiles que pueden utilizarse en el monitoreo del estado de salud de poblaciones silvestres, en especial de especies amenazadas o de interés en conservación (Maceda-Veiga et al. 2015). Dado que los reptiles en general suelen ser muy sensibles a los cambios en el ambiente, las alteraciones en los parámetros sanguíneos pueden servir también como indicadores de la calidad ambiental (Fasola et al. 2022). Sin embargo, existen varios factores tanto individuales (ej., edad, sexo, estado nutricional) como ambientales (ej., fotoperíodo, temperatura, hábitat) que influyen en los parámetros hematológicos, por lo que es importante que los valores de referencia para cada especie contemplen las posibles variaciones demográficas y temporales (Pagés et al. 1992, Lawrence y Hawkey 1986, Chung et al. 2009, Tavares-Dias et al. 2009, Tosunoglu et al. 2011, Leineweber et al. 2019).

En las últimas décadas se han realizado diversos estudios en poblaciones naturales de tortugas terrestres, dulceacuícolas y marinas de distintas regiones del planeta que emplean variables hematológicas como indicadores de su estado sanitario, y para inferir su relación

con factores ambientales en ecosistemas impactados (Christopher et al. 1999, Hidalgo-Vila et al. 2007, Chaffin et al. 2008, Perpiñán et al. 2008, Harris et al. 2011, Komoroske et al. 2011, Omonona et al. 2011, Kimble y Williams 2012, Sheelings y Rafferty 2012, Andreani et al. 2014, Lewbart et al. 2014, de Mello y Alvarez 2020). La bibliografía de esta temática en tortugas dulceacuícolas sudamericanas está basada casi en su totalidad en poblaciones de Brasil (Zago et al. 2010b, Oliveira-Junior et al. 2008, Ferronato et al. 2009, Tavares-Dias et al. 2009, Rossini et al. 2012, Stein et al. 2015). Respecto de las especies estudiadas en la presente tesis existen estudios hematológicos para poblaciones silvestres de *Phrynops hilarii* del sur de Brasil (Pitol et al. 2007, 2008) así como en individuos cautivos (Latorre et al. 2015). Al momento, no existen antecedentes publicados para *Hydromedusa tectifera*.

La sangre periférica de los reptiles exhibe gran variabilidad en cantidad y morfología de células sanguíneas, incluso entre especies de un mismo género (Stacy et al. 2011). Al igual que en otros vertebrados no mamíferos, los eritrocitos de los reptiles generalmente tienen forma elíptica o alargada, con abundante citoplasma eosinófilo y núcleo oval o redondo de posición central o periférica, con cúmulos densos de cromatina (Strik et al. 2007). Los leucocitos, por su parte, se dividen entre granulocitos (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y agranulocitos o células mononucleares (linfocitos, monocitos y azurófilos; Stacy et al. 2011). Los azurófilos están mayormente presentes en escamados y cocodrilos, resultando muy raros en tortugas (Strik et al. 2007). A continuación, se describen brevemente cada uno de los tipos leucocitarios presentes en tortugas:

-Heterófilos: células grandes y redondas, con núcleo redondeado u oval, generalmente excéntrico y muchas veces bilobulado, citoplasma claro con gránulos eosinófilos numerosos y característicos por su forma fusiforme (Sykes y Klaphake 2008). Son los leucocitos fagocitarios principales y representan la primera línea de defensa innata frente a infecciones bacterianas y parasitarias, inflamaciones inespecíficas y stress (Davis et al. 2008, Tracchia 2018). Son el tipo leucocitario más frecuente en reptiles, ocupando un alto porcentaje del perfil leucocitario.

-Eosinófilos: núcleo de forma variable (elongado o lobulado), central o excéntrico; forma y tamaño celular similar al de heterófilos, aunque se distinguen de éstos principalmente por

sus gránulos redondos en lugar de elongados (Stacy et al. 2011). Tienen función fagocitaria y participan en la respuesta inmune en general frente a parásitos protozoos y helmintos (Tracchia 2018).

-Basófilos: células pequeñas, con gránulos metacromáticos basófilos, pequeños y numerosos los que generalmente oscurecen al núcleo, que es central y redondo (Sykes y Klaphake 2008). Tienen función inmunológica, sus gránulos liberan histamina e inmunoglobulinas de superficie (Tracchia 2018).

-Linfocitos: de forma circular, núcleo grande y citoplasma escaso, levemente basófilo. Al igual que los linfocitos de mamíferos y aves, los de reptiles se dividen en tipo B, productores de inmunoglobulinas, y tipo T, que intervienen en la respuesta inmune mediada por células (Stacy et al. 2011). Son el tipo leucocitario predominante en la mayoría de los reptiles y su número aumenta frente a procesos inflamatorios, infecciones, parasitosis y enfermedades virales, mientras que la leucopenia se asocia a generalmente con malnutrición.

-Monocitos: células muy grandes, redondeadas, con citoplasma abundante y núcleo redondo o arriñonado. Son macrófagos que cumplen un rol importante en la defensa frente a bacterias y otros patógenos (Davis 2004).

El último tipo celular presente en la sangre periférica, los trombocitos o plaquetas, son células pequeñas elípticas o fusiformes, con núcleo central basófilo, cromatina densa y citoplasma claro (Campbell 2006). Su funcionalidad está principalmente relacionada con la formación de trombos, actuando en el proceso de cicatrización de heridas. También tendrían capacidad fagocitaria limitada.

Los perfiles leucocitarios (proporciones relativas de cada tipo leucocitario) son particularmente útiles en la fisiología de los vertebrados dado que muestran alteraciones a causa del stress y se pueden relacionar directamente con niveles hormonales de stress (Davis et al. 2008). El stress genera aumentos en el número de heterófilos (heterofilia) y disminuciones en el número de linfocitos (linfopenia) y, dado el efecto opuesto que tiene sobre ambos tipos celulares, esta relación (heterófilos/linfocitos: H/L) se utiliza para indicar respuesta al stress. Existe una multicausalidad asociada a esto último, siendo los factores más relevantes: escasez de alimento, infección por parásitos, migración, exposición a plaguicidas

agrícolas, daño físico y gestación, todos ellos expresados en un alto índice H/L (Davis et al. 2008). Estudios realizados en tortugas demostraron que existe un aumento de la relación H/L frente a disturbios y malas condiciones en el hábitat, tanto en ambientes naturales como artificiales (Case et al. 2005, Keller et al. 2012, Selman et al. 2013).

3.2. Objetivos e hipótesis

En el presente capítulo se abordan los siguientes objetivos:

- ✓ Evaluar posibles variaciones en los siguientes parámetros hematológicos entre tortugas de la misma especie que habitan cursos de agua con distinto tipo de disturbio antrópico: Recuento Total de Eritrocitos (RTE), Recuento Total de Leucocitos (RTL), perfil leucocitario, índice de stress (H/L).
- ✓ Analizar si estos mismos parámetros presentan variaciones entre tortugas de la misma especie con y sin úlceras en el caparazón, y entre especies dentro de un mismo arroyo globalmente.
- ✓ Establecer parámetros hematológicos de referencia para ambas especies a partir de los resultados obtenidos para las poblaciones de los cursos de agua con bajo o casi nulo impacto de contaminación.

Las hipótesis que se testearán son:

1) Las tortugas son sensibles a la calidad del agua y al grado de contaminación por actividad antrópica que ésta presenta, lo que se manifiesta en sus parámetros hematológicos. Predicción: Las tortugas que habitan ambientes con mayor impacto antrópico presentarán menor cantidad de eritrocitos, mayor cantidad de leucocitos y mayor índice H/L respecto de las que viven en sitios menos impactados.

2) La enfermedad ulcerativa del caparazón genera alteraciones en los valores hematológicos.

Predicción: Las tortugas con úlceras en el caparazón presentarán leucocitosis y alteraciones en el perfil leucocitario (linfocitosis, heterofilia, eosinofilia) a diferencia de las tortugas sin úlceras.

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Toma de muestra

Para cada especie en cada arroyo, se tomaron muestras de sangre de individuos adultos (LRC > 15 cm) de ambos sexos con y sin ulceraciones en el caparazón, en tres individuos por cada una de las categorías mencionadas (sexo y presencia/ausencia de ulceraciones), contabilizando en total 12 tortugas por arroyo y especie. Este número no pudo alcanzarse en todos los casos, lo que dependió de la cantidad total de tortugas capturadas, su tamaño, proporción de sexos y estado sanitario (ver más adelante). Las tortugas seleccionadas para la extracción de sangre fueron las primeras tres de cada categoría que se obtuvieron en los muestreos sucesivos. Las extracciones se tomaron a campo, salvo algunos casos en que las tortugas se trasladaron a laboratorio a causa de las dificultades que imponían ciertos sitios de muestreo. Las mismas fueron devueltas al sitio de captura con la mayor inmediatez que fue posible.

Cada muestra de sangre (0,5 ml) se extrajo de la vena yugular empleando aguja hipodérmica de 0,6 mm de diámetro (Fig. 65). Inmediatamente a cada extracción se realizaron dos extendidos (frotis) sanguíneos por individuo, los que se dejaron secar al aire y luego se fijaron con etanol 96% para su posterior tinción (ver más adelante). La sangre restante de la muestra se mezcló con el anticoagulante heparina en una proporción de 2 μ l/ml (Troiano y Silva 1998, Sykes y Klaphake 2008) y se conservó en frío hasta el momento de su observación al microscopio (ver a continuación).



Figura 65. Extracción de sangre de la vena yugular en un individuo adulto de *H. tectifera*.

3.3.2. Conteo directo de células sanguíneas

La sangre fresca se procesó generalmente dentro de las dos horas posteriores a la extracción, para evitar la fragmentación de las células. Los conteos de eritrocitos y leucocitos de cada individuo se realizaron por duplicado en un hemocitómetro (cámara Neubauer) siguiendo la metodología propuesta por Natt y Herrick (1952), bajo microscopio óptico (Leica DM 1000) a 40X. Se trabajó con una dilución 1/100, empleando una pipeta Thoma para conteo de células rojas.

Los glóbulos rojos se contaron en 5 campos del cuadrado central de la cámara (los 4 cuadrantes de las esquinas y el cuadrado central, área que equivale a 80 cuadrados mínimos de $1/5 \text{ mm}^2$ de lado).

La cantidad de eritrocitos por mm^3 se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{RTE} = N \times 100 \times 400 \times 10 / 80 = N \times 5000,$$

siendo N= número de eritrocitos contados, 100= factor de dilución, 400= factor para convertir en mm^3 , 10= factor para convertir en mm^3 , y 80= número de campos contados.

Los leucocitos se contaron en 4 de los 9 cuadrados principales de la cámara y su cantidad se calculó para un mm^3 por medio de la siguiente fórmula:

$$RTL = N \times 100 \times 10 / 4 = N \times 250,$$

siendo N=número de leucocitos contados, 100= factor de dilución, 10= factor para convertir en mm³, y 4= número de campos contados.

3.3.3. Perfil leucocitario

Los extendidos sanguíneos se tiñeron siguiendo la técnica pancromática de May-Grünwald-Giemsa o método de Pappenheim (Rosenfeld 1947) y se observaron bajo microscopio óptico en objetivo de inmersión 100X.

El perfil leucocitario de cada tortuga se realizó a partir del conteo de 100 leucocitos en campos visuales homogéneos empleando la técnica de guarda griega (de arriba hacia abajo y de izquierda a derecha del preparado). Las células se clasificaron dentro de los cinco tipos leucocitarios presentes en tortugas (heterófilos: H, eosinófilos: E, linfocitos: L, monocitos: M y basófilos: B) y se calculó la proporción obtenida para cada tipo (% H, % E, % L, % M y % B). Además, en base al número total de heterófilos y leucocitos se calculó el índice de stress H/L (Davis et al. 2008).

La Figura 66 resume la metodología de laboratorio empleada para el procesamiento y análisis de las muestras hematológicas.

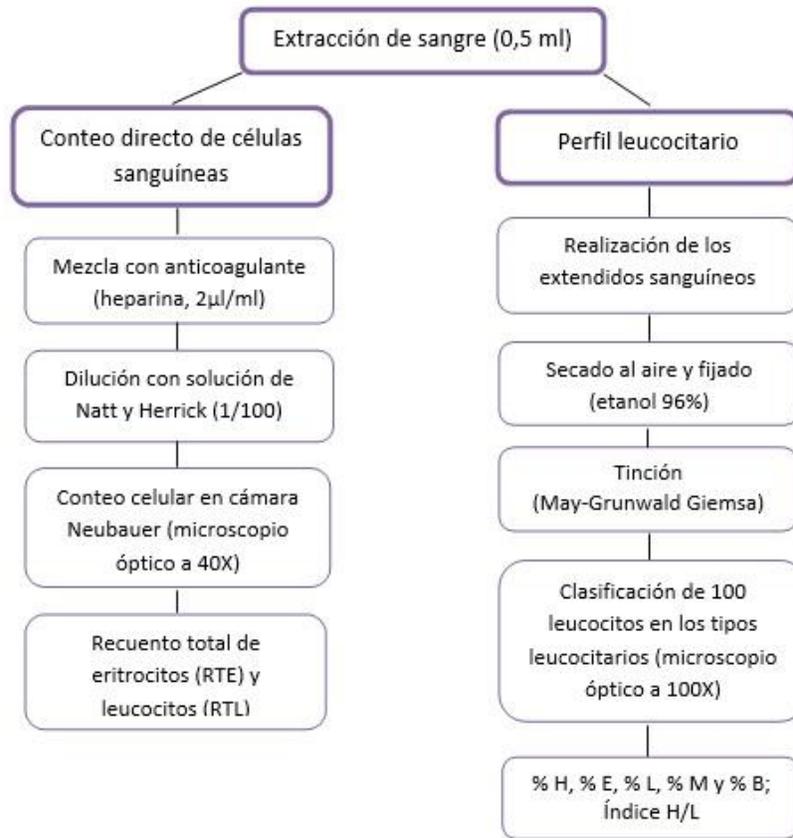


Figura 66. Metodología de laboratorio para procesamiento de las muestras de sangre.

3.3.4. Análisis estadístico

Para todas las variables se testearon los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En los casos en que éstos no se cumplieron se procedió a la transformación de los datos (\log_{10}) o se empleó estadística no paramétrica, según se detalla a continuación.

Se compararon las variables medidas en cada especie entre arroyos por medio de Análisis de la Varianza paramétrica (ANOVA) o no paramétrica (Kruskal-Wallis) de una vía, según correspondiera, empleando “arroyo” como factor y las siete variables respuesta correspondientes (RTE, RTL, %H, %E, % L, %M y H/L). En los casos en que se obtuvieron diferencias significativas entre grupos, se realizaron test a posteriori (Tukey o Dunn, para ANOVA paramétrico o no paramétrico, respectivamente). El porcentaje de basófilos (% B) se excluyó de los análisis para ambas especies debido a que este tipo celular o no se observó o bien tuvo

una frecuencia muy baja en casi la totalidad de los preparados. Previo a realizar los mencionados análisis, se hicieron comparaciones entre sexos por especie y arroyo a fin de descartar efectos del sexo. Una vez que éstos se descartaron se procedió a realizar la comparación global.

Por otro lado, en cada arroyo donde hubo tortugas de *H. tectifera* con ulceraciones en el caparazón, las tortugas con o sin úlceras se compararon para cada variable hematológica por medio de una serie de test para comparación de dos medias, en sus versiones paramétrica (t student) o no paramétrica (Mann-Whitney U) según correspondiera. Este mismo procedimiento se empleó para comparar tortugas con y sin úlceras de manera global, sin discriminar entre arroyos, aumentando el N de las tortugas sin úlceras dado que se incluyeron los datos de todos los arroyos estudiados.

Las comparaciones entre especies se realizaron separadamente para cada arroyo empleando un test para comparación de dos medias (versiones paramétrica y no paramétrica, según correspondiera).

En todos los análisis el nivel de significancia fue $p < 0,05$. Los análisis se realizaron por medio de los softwares Info Stat (versión 2020; Di Rienzo et al. 2020) y Sigma Plot (versión 14.5).

3.4. Resultados

La morfología de los tipos celulares sanguíneos presentó, en general, características similares entre ambas especies: los eritrocitos presentaron forma elíptica típica y núcleo redondo u oval de posición central, sin anormalidades nucleares o citoplasmáticas evidentes. Respecto a los leucocitos, se distinguieron los tipos celulares típicos: heterófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos (Fig. 67A-D y Fig. 68A-D) y basófilos, este último en muy baja proporción. Las características observadas en los distintos tipos celulares de ambas especies concuerdan mayormente con lo descrito para *P. hilarii* (Pitol et al. 2007, 2008) y para otras especies de tortugas de agua dulce (Arcila et al. 2005, Oliveira Junior et al. 2009, Zago et al. 2010a). Los trombocitos se observaron tanto aislados como formando

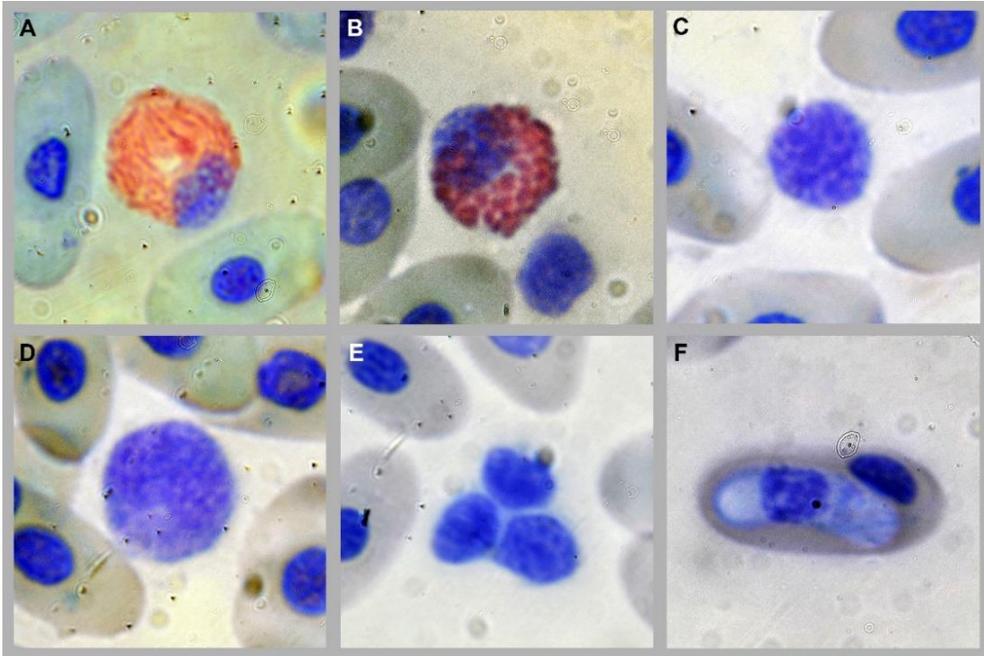


Figura 67. Tipos celulares observados en *H. tectifera*: A) heterófilo; B) eosinófilo; C) linfocito; D) monocito; E) trombocitos; F) parásito hemogregarino en eritrocito.

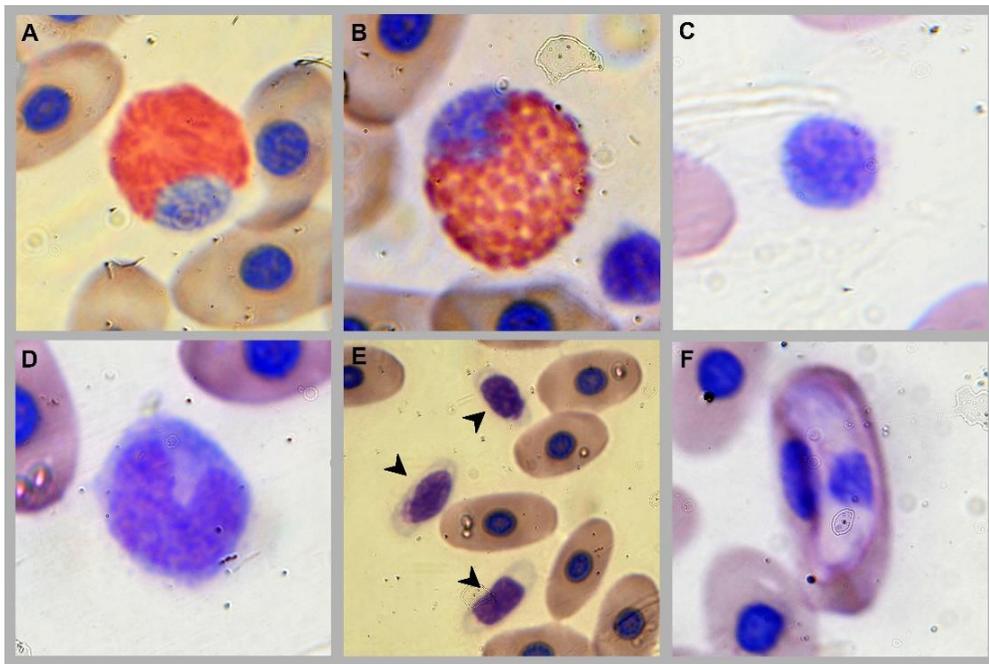


Figura 68. Tipos celulares observados en *P. hilarii*: A) heterófilo; B) eosinófilo; C) linfocito; D) monocito; E) trombocitos; F) parásito hemogregarino en eritrocito.

grupos de tres o más células. A modo general, pudo detectarse que los trombocitos de *P. hilarii* tuvieron contornos más definidos, forma alargada y con citoplasma más abundante (Fig. 68E), mientras que los de *H. tectifera* fueron más pequeños, mayormente redondeados o irregulares y con citoplasma más escaso (Fig. 67E).

Por último, cabe mencionar que se observaron parásitos intracelulares hemogregarinos en los eritrocitos de ambas especies (Fig. 67F y Fig. 68F). Si bien no se cuantificó la prevalencia parasitaria (por no representar uno de los objetivos del presente estudio), a modo general se pudo observar que los hemogregarinos estuvieron presentes en las muestras provenientes de casi todos los arroyos estudiados, a excepción de los de mayor impacto ambiental (El Gato y Rodríguez).

3.4.1. Comparaciones por especie entre arroyos

3.4.1.1. *Hydromedusa tectifera*

Se obtuvo un total de 76 muestras de sangre de esta especie, de las cuales 74 fueron viables para su observación directa (RTE y RTL) a causa de la coagulación de dos de ellas (una del A° Toro Muerto y otra del A° Tanti). Como se señaló más arriba, la cantidad de muestras sanguíneas alcanzada para cada categoría (macho/hembra, ulcerada/no ulcerada) dependió de la cantidad de capturas, el tamaño de las tortugas y de la frecuencia de ocurrencia de cada una de las categorías. Por ello, en ciertos arroyos no se alcanzó el N=3 propuesto para cada categoría. Este es el caso de los arroyos Sauce Grande y Toro Muerto, donde no hubo individuos que cumplieran con la categoría “ulcerada” ya que ninguna de las tortugas capturadas presentó ulceraciones en el caparazón. En otros arroyos (ej., El Gato) alguna de las categorías (“hembra sin úlceras”) no estuvo presente dentro de la muestra total de tortugas obtenida, tanto porque las hembras no fueron suficientes como porque todas ellas presentaron condición ulcerada.

A) Recuentos celulares

El recuento total de eritrocitos (RTE) para *H. tectifera* tomó valores que rondaron el $4,5 \times 10^3 / \mu\text{l}$, a excepción del valor correspondiente al A° El Gato que resultó considerablemente menor al resto (Tabla 54). Los valores más altos se obtuvieron en los A° Carnaval y

Rodríguez. Similares resultados se obtuvieron para el conteo total de leucocitos (RTL), dado que los valores más altos correspondieron a los A° Carnaval y Rodríguez, siendo el más bajo el del A° El Gato (Tabla 54).

Tabla 54. Recuentos totales de eritrocitos (RTE; $10^5/\mu\text{l}$) y leucocitos (RTL; $10^3/\mu\text{l}$) en *H. tectifera* por arroyo. N= tamaño de muestra

	RTE			RTL			N
	Media (\pm DE)	Min.	Máx.	Media (\pm DE)	Min.	Máx.	
Carnaval	5,3 (\pm 2,3)	2,92	8,92	13,1 (\pm 4,76)	6,4	21,5	10
Martín	3,9 (\pm 0,8)	2,47	4,97	8,05 (\pm 2,64)	4,25	11	8
Rodríguez	5,9 (\pm 2,7)	3,9	12,8	12,8 (\pm 7,22)	3	28,6	12
El Gato	1,4 (\pm 0,7)	0,55	2,37	7 (\pm 3,46)	2,75	11,8	9
Tubichamini	5,2 (\pm 2,2)	1,83	9,12	8,17 (\pm 2,9)	3,62	12,2	7
B1	3,8 (\pm 1)	2,65	5,2	9,23 (\pm 4,27)	4,5	16,2	6
B2	4,4 (\pm 2,2)	1,27	7,2	8,48 (\pm 5,9)	4,62	18,8	5
Sauce Grande	5 (\pm 1,6)	2,82	6,47	7,5 (\pm 4,33)	3	13	4
Tanti	5,1 (\pm 1,6)	2,78	7	8,27 (\pm 2,08)	4,87	10,6	7
Toro Muerto	4,9 (\pm 1,1)	4,1	6,82	6,27 (\pm 1,28)	4,12	8	6

Por su parte, las comparaciones estadísticas entre los arroyos estudiados en base a los recuentos totales de eritrocitos (RTE) y leucocitos (RTL) arrojaron diferencias significativas para el primero pero no para el segundo (RTE: $F_{9,65} = 9,89$, $p = <0,001$; RTL: $F_{9,65} = 1,93$, $p = 0,06$). El test a posteriori determinó que las tortugas del A° El Gato tuvieron un valor de media de RTE significativamente menor a los individuos del resto de los arroyos (Fig. 69).

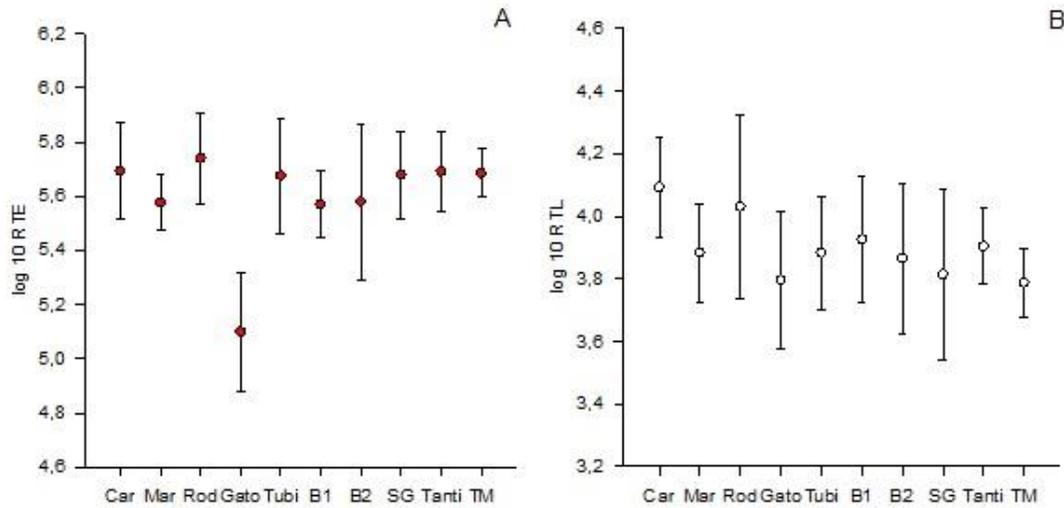


Figura 69. Media (\pm DE) de los recuentos celulares totales para las poblaciones de *H. tectifera*. A) RTE; B) RTL.

B) Perfil leucocitario e índice H/L

Los heterófilos, eosinófilos y linfocitos fueron los tipos celulares más frecuentes del perfil leucocitario de *H. tectifera* en todos los arroyos estudiados (Tabla 55). El primer tipo obtuvo la media más baja en la muestra del A° Tanti (22,1%) y la más alta en la muestra del A° Rodríguez (48,3%). Para el segundo tipo celular la diferencia entre las medias más bajas (17%, A° Toro Muerto) y altas (27,2%, A° Sauce Grande) fue menor. Por último, la menor y mayor media para los linfocitos fue en los A° Rodríguez (23,2%) y Tanti (41,5%), respectivamente.

Respecto a los restantes tipos leucocitarios, la media para los monocitos fue en todos los casos menor al 12% siendo la más baja la correspondiente al A° El Gato (4,8%). Los basófilos tuvieron una frecuencia marcadamente baja, inferior al 1% en casi todos los casos. En correspondencia con los valores obtenidos para heterófilos y linfocitos, el índice de stress H/L tuvo su máxima media en la muestra del A° Rodríguez (2,4) y la mínima en la del A° Tanti (0,6).

Tabla 55. Media (\pm DE) de los porcentajes de cada tipo celular y relación H/L del perfil leucocitario de *H. tectifera* por arroyo. H= heterófilos, E= eosinófilos, L= linfocitos, M= monocitos, B= basófilos, N= tamaño de muestra.

	% H	% E	% L	% M	% B	H/L	N
Carnaval	36,9 (12)	25,1 (11)	31,9 (7)	5,3 (3,2)	0,6 (1,7)	1,2 (0,6)	10
Martín	39,8 (12)	20,3 (4,7)	33,5 (10)	6,1 (2,5)	0,2 (0,7)	1,44 (1)	8
Rodríguez	48,3 (17)	20,8 (15)	23,2 (6,8)	7,5 (6)	0,15 (0,3)	2,4 (1,6)	12
El Gato	40,9 (10)	20,2 (14)	33,8 (5,5)	4,8 (6,7)	0,22 (0,6)	1,2 (0,4)	9
Tubichamini	36,3 (12)	26,3 (11)	30,2 (6,6)	7,1 (6,8)	0 (0)	1,3 (0,6)	7
B1	29,7 (6,9)	27,1 (7,6)	34,1 (9,3)	8,8 (0,4)	0,16 (0,4)	0,9 (0,5)	6
B2	30,7 (20)	23,5 (15)	33,7 (15)	12 (9,3)	0 (0)	1,5 (1,8)	5
Sauce Grande	31 (7,3)	27,2 (5,2)	31,1 (11)	9,4 (4,4)	1,2 (0,9)	1,1 (0,4)	4
Tanti	22,1 (6,9)	24 (10,5)	41,5 (10)	11,6 (5)	0,42 (0,8)	0,6 (0,3)	8
Toro Muerto	42,5 (13)	17 (10,8)	30,7 (11)	9,6 (11)	0 (0)	1,6 (0,8)	7

Por su parte, la comparación estadística entre los arroyos estudiados en base al porcentaje obtenido de cada tipo celular del perfil leucocitario (excepto basófilos que fueron excluidos del análisis por su baja frecuencia en todos los casos) arrojó diferencias significativas para el porcentaje de heterófilos (%H) y para el índice H/L (Tabla 56). El test a posteriori en base al %H permitió reconocer que las diferencias significativas se dieron entre los arroyos Tanti y Rodríguez, mientras que los restantes arroyos no difirieron entre sí ni con los arroyos mencionados (Fig. 70A). El correspondiente test a posteriori del índice H/L determinó tres grupos de arroyos que no difirieron significativamente entre sí: a) A° Tanti, sectores B1 y B2 del A° Buñirigo, A° Sauce Grande, b) sectores B1 y B2 del A° Buñirigo, A° Sauce Grande, A° Carnaval, A° Tubichamini, A° Martín, A° El Gato y A° Toro Muerto, y c) A° Sauce Grande, A° Tubichamini, A° Carnaval, A° Martín, A° El Gato, A° Toro Muerto, A° Rodríguez (Fig. 70B).

Tabla 56. Coeficientes de ANOVA (F) o Kruskal-Wallis (H) y significancia de las comparaciones entre arroyos por tipo leucocitario porcentual y relación H/L, de *H. tectifera*. Los valores de p significativos se indican en negrita.

	Anova o Kruskal-Wallis	P
% H	$F_{9,67} = 3,46$	0,002
% E	$F_{9,67} = 0,58$	0,8
% L	$H = 14,9$	0,09
% M	$H = 9,9$	0,36
H/L	$H = 21,37$	0,01

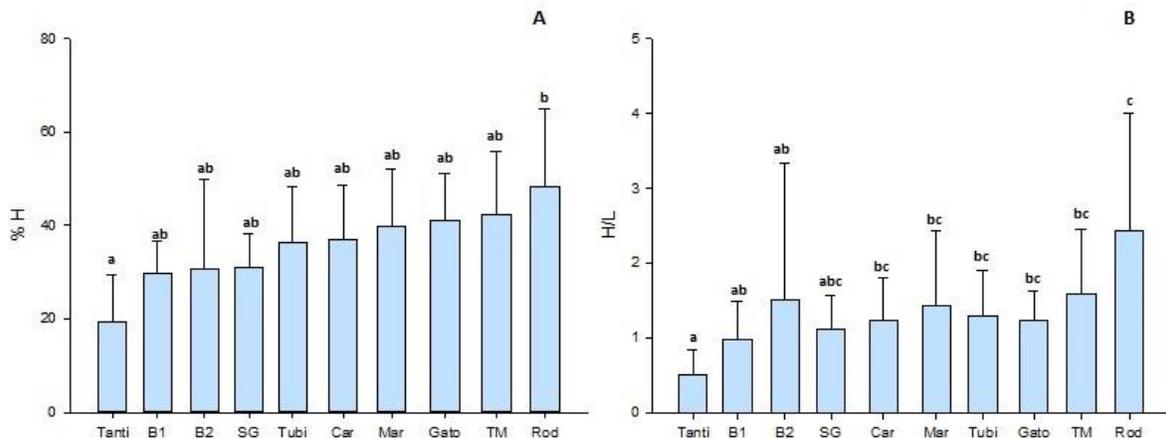


Figura 70. Media (\pm DE) de las variables hematológicas que resultaron significativamente diferentes entre las poblaciones de *H. tectifera*: A) %H; B) H/L. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes entre sí.

C) Análisis comparativo entre tortugas con y sin úlceras en el caparazón

Los análisis comparativos entre tortugas ulceradas y no ulceradas por arroyo no arrojaron diferencias significativas para ninguna de las variables hematológicas estudiadas, a excepción del RTL del A° Rodríguez el cual el resultó significativamente menor en las tortugas ulceradas (Tabla 57). En los A° Tubichamini, Tanti y el sector B1 del Buñirigo se capturó una única tortuga con úlceras en cada uno, por lo que estos sitios no fue posible realizar ningún análisis. También se decidió excluir las muestras correspondientes al sector B2 del A°

Buñirigo por contar con solo dos muestras de tortugas con úlceras. Por su parte, el análisis comparativo global (sin discriminar por arroyo) entre la totalidad de tortugas con y sin úlceras arrojó iguales resultados, sin haber diferencias significativas entre los dos grupos para ninguna de las variables analizadas (Tabla 58).

Tabla 57. Coeficientes de los test no paramétricos Mann-Whitney (W) y significancia de las comparaciones entre tortugas con y sin úlceras de los recuentos celulares totales, tipos leucocitarios porcentuales y relación H/L, de *H. tectifera* según arroyo. Los valores de p significativos se indican en negrita. N= tamaño muestral, s/u= tortugas sin úlceras, c/u= tortugas con úlceras.

	Carnaval		Martín		Rodríguez		El Gato	
	N s/u= 6		N s/u= 4		N s/u= 6		N s/u= 4	
	N c/u= 4		N c/u=4		N c/u= 6		N c/u= 5	
	W	p	W	p	W	p	W	p
RTE	22	>0,99	23	0,2	41,5	0,74	20	>0,99
RTL	17	0,35	20	0,68	55	0,008	20	>0,99
% H	16	0,26	16	0,68	46	0,31	25	0,28
% E	26	0,48	12	0,11	41	0,82	21	0,9
% L	24	0,76	23	0,2	34	0,48	18	0,73
% M	25	0,6	19	0,88	22	0,18	5	0,38
H/L	16	0,26	15	0,48	44	0,48	23	0,55

Tabla 58. Coeficientes de los test paramétrico (t) y no paramétrico Mann-Whitney U (W) y significancia de la comparación global entre tortugas con y sin úlceras de *H. tectifera* de los recuentos celulares totales, tipos leucocitarios porcentuales y relación H/L. N tortugas sin úlceras= 50, N tortugas con úlceras= 25.

	t o Mann-Withney (W)	p
RTE	W= 470	0,1
RTL	t= -1,8	0,07
% H	W= 594	0,73
% E	W= 562	0,48
% L	W= 593	0,72
% M	W= 469	0,08
H/L	t= 0,38	0,7

3.4.1.2. *Phrynops hilarii*

Se obtuvo un total de 27 muestras sanguíneas, excluyendo la muestra correspondiente al único ejemplar de la especie capturado para el A° Carnaval. El menor número de muestras de sangre obtenidas para *P. hilarii* respecto de *H. tectifera* se debió principalmente a la ausencia de la categoría “ulcerada” para todos los arroyos (motivo por el cual no se realizó el respectivo análisis comparativo para esa categoría) además de la ausencia total (A° Toro Muerto, Tanti, Sauce Grande) o su abundancia extremadamente baja (Canal Villa Elisa) en algunos de ellos. Asimismo, la muestra correspondiente al A° Rodríguez (N=3) fue utilizada solo para fines descriptivos, pero se la excluyó de los análisis estadísticos subsiguientes debido al pequeño tamaño de la muestra.

A) Recuentos celulares

El recuento del número total de eritrocitos (RTE) tuvo la media más alta en las muestras de los A° Rodríguez y El Gato (Tabla 59), mientras que la media más baja fue para la muestra del sector B2 del A° Buñirigo. Por otro lado, el número total de leucocitos (RTL) obtuvo su

media más alta en la muestra del A° El Gato, mientras que las medias de los restantes arroyos tuvieron valores similares entre sí, siendo la más baja la correspondiente al A° Tubichamini (Tabla 59). Sin embargo, el análisis comparativo entre los arroyos estudiados no arrojó diferencias significativas para ninguno de los dos tipos celulares (RTE: $F_{3,20} = 1,89$; $p = 0,16$; RTL: $F_{4,20} = 2,12$; $p = 0,13$).

Tabla 59. Recuentos totales de eritrocitos (RTE; $10^5/\mu\text{l}$) y leucocitos (RTL; $10^3/\mu\text{l}$) en *P. hilarii*, según arroyo.

	RTE			RTL			N
	Media (\pm DE)	Min.	Máx.	Media (\pm DE)	Min.	Máx.	
Rodríguez	4,19 (\pm 2,6)	2,45	7,2	12,6 (\pm 4,6)	7,25	15,7	3
El Gato	4,41 (\pm 1,31)	3	6,5	19,4 (\pm 7,7)	12,1	30,8	5
Tubichamini	3,56 (\pm 1,15)	2,07	4,82	11,6 (\pm 2,5)	9,75	15,1	6
B1	3,36 (\pm 0,89)	2,57	4,92	11,7 (\pm 5,45)	1,4	17,2	6
B2	2,95 (\pm 7,22)	1,87	3,85	11,9 (\pm 7,4)	5,5	23,2	6

B) Perfil leucocitario e índice H/L

Los heterófilos fueron el tipo celular más frecuente para todas las poblaciones estudiadas de la especie seguido, en la mayoría de los casos, por los linfocitos y luego por los eosinófilos (Tabla 60). Los tipos leucocitarios menos frecuentes para todas las poblaciones fueron los basófilos.

Los análisis de la varianza entre arroyos por su parte arrojaron diferencias significativas para casi todas las variables empleadas, excepto para el porcentaje de monocitos (%M; Tabla 61). Los test a posteriori determinaron diferencias significativas entre el A° El Gato y el resto de los arroyos estudiados para el %H (Fig. 71A), entre el A° Tubichamini respecto de los arroyos El Gato y sector B2 del Buñirigo para el %E (Fig. 71B), entre el A° Tubichamini y ambos sectores del A° Buñirigo para el %L (Fig. 71C), y entre el sector B2 del A° Buñirigo y el A° El Gato para el índice H/L (Fig. 71D).

Tabla 60. Valores medios (\pm DE) de los porcentajes de cada tipo celular y relación H/L del perfil leucocitario de *P. hiaraii* por arroyo. H= heterófilos, E= eosinófilos, L= linfocitos, M= monocitos, B= basófilos, N= tamaño de muestra.

	% H	% E	% L	% M	% B	H/L	N
Rodríguez	32 (6,3)	31 (24,5)	28,9 (14)	7,6 (3,6)	0,47 (0,5)	1,3 (0,4)	3
El Gato	45,7 (5,3)	7,16 (1)	39,7 (9)	6,8 (3,9)	0,58 (0,9)	1,2 (0,5)	5
Tubichamini	32,1 (9,6)	25,7 (15)	34,7 (9)	4 (2,2)	3,44 (3,6)	1 (0,3)	6
B1	31,5 (8,4)	12,4 (10)	50 (11,9)	5 (1,2)	1,09 (1,4)	0,7 (0,3)	6
B2	31,9 (4,3)	9,15 (6,5)	50,7 (9,6)	8,1 (2,9)	0 (0)	0,7 (0,2)	6

Tabla 61. Coeficientes de los análisis de la varianza y significancia para las comparaciones entre arroyos del perfil leucocitario y relación H/L de *P. hiaraii*. Los valores de p significativos se indican en negrita.

	ANOVA	p
% H	F _{3, 20} = 4,72	0,01
% E	F _{3,20} = 4,18	0,02
% L	F _{3, 20} = 3,66	0,03
% M	F _{3,20} = 2,78	0,069
H/L	F _{3,20} = 3,49	0,04

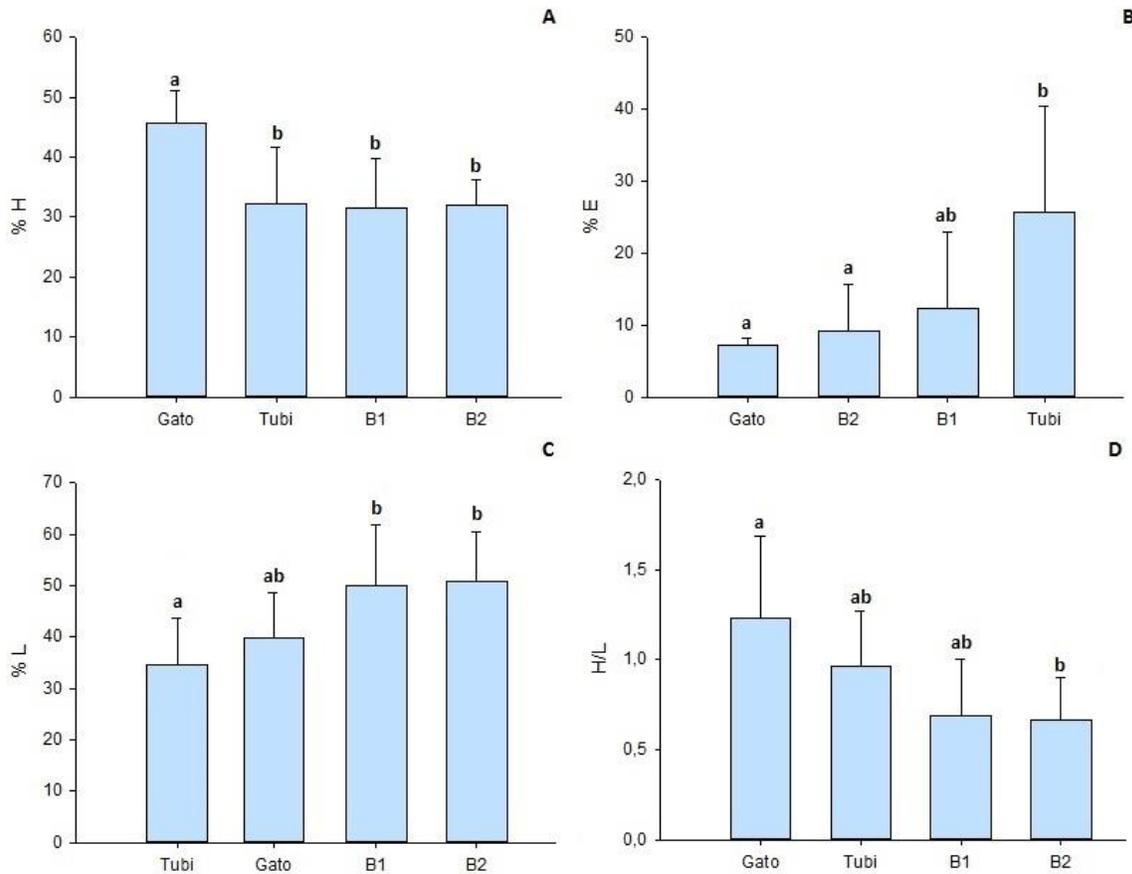


Figura 71. Media (\pm DE) de las variables hematológicas que resultaron significativamente diferentes entre las poblaciones de *P. hilarii*: A) %H; B) %E; C) %L; D) %H/L. Las medias con una letra común no son significativamente diferentes entre sí.

3.4.2. Comparación entre especies

Las comparaciones estadísticas entre ambas especies por arroyo arrojaron diferencias significativas para las variables RTE y RTL solo para el A° El Gato (Tabla 62), siendo mayor el número de ambas células en *P. hilarii*. Respecto al perfil leucocitario, se obtuvieron diferencias significativas para %E en el A° Tubichamini y el sector B1 del A° Buñirigo (en ambos el porcentaje de eosinófilos obtenido para *H. tectifera* fue mayor que el correspondiente para *P. hilarii*) y para %L, siempre más elevado en las *P. hilarii* de ambos sectores del A° Buñirigo (B1 y B2) (Tabla 62).

Tabla 62. Coeficientes de t- test (t) y Mann-Whitney U (W) y significancia para las comparaciones entre especies de los recuentos celulares totales, perfil leucocitario y relación H/L por arroyo. Los valores de p significativos se indican en negrita.

		El Gato	Tubichamini	B1	B2
RTE	Coeficiente	t= -4,92	t= 1,38	t= 0,81	t=0,95
	<i>p</i>	<0,001	0,19	0,44	0,36
RTL	Coeficiente	t=-4,1	t=-2,16	W= 11	t=-0,93
	<i>p</i>	0,001	0,054	0,3	0,37
% H	Coeficiente	t=-1,06	t= 0,5	t= -0,27	W=12
	<i>p</i>	0,31	0,62	0,79	0,66
% E	Coeficiente	W=5	t= 0,2	t= 2,4	t=1,1
	<i>p</i>	0,02	0,84	0,04	0,3
% L	Coeficiente	t= -1,39	t= -0,94	t= -2,33	W=3
	<i>p</i>	0,19	0,37	0,04	0,03
% M	Coeficiente	t= -0,52	t= 1,06	W= 7	t=0,05
	<i>p</i>	0,61	0,31	0,09	0,96
H/L	Coeficiente	t= 0,07	t= 0,86	t= 1,21	W= 13
	<i>p</i>	0,94	0,4	0,25	0,79

3.4.3. Valores hematológicos de referencia

A partir de los resultados de parámetros hematológicos obtenidos en tortugas sin úlceras de cursos de agua con bajo o casi nulo impacto de contaminación se generaron valores de referencia para ambas especies. Las muestras empleadas fueron las provenientes de los A° Tubichamini y sector B1 del A° Buñirigo (ambas especies), A° Sauce Grande, A° Tanti y A° Toro Muerto (solo *H. tectifera*), totalizando 32 muestras para *H. tectifera* (30 para RTE y RTL por lo mencionado al principio de la sección 3.4.1.1.) y 12 muestras para *P. hilarii*. En la Tabla 63 se detallan los mencionados valores totales para ambas especies.

Tabla 63. Valores de referencia promedio (\pm DE), mínimos y máximos de los Recuentos Totales de Eritrocitos (RTE; $10^5/\mu\text{l}$) y Leucocitos (RTL; $10^3/\mu\text{l}$) y de los porcentajes de cada tipo celular y relación H/L del perfil leucocitario, para ambas especies.

	<i>H. tectifera</i>		<i>P. hiliarii</i>	
	Media (DE)	Mín-Máx	Media (DE)	Mín-Máx
RTE	4,96 (1,52)	1,82-9,12	3,46 (0,98)	2,1-4,9
RTL	8 (3,14)	3-16,2	11,7 (4,03)	1,4-17,2
% H	32,83 (11,5)	11-60,6	31,8 (8,6)	17,8-43,5
% E	24,3 (10,2)	1,9-44	19,1 (14)	0-47,6
% L	33,5 (9,8)	20,2-53	42,3 (12,8)	21,4-61,9
% M	9 (6,75)	0-32,1	4,5 (1,7)	1-6,9
% B	0,31 (0,65)	0-2	2,27 (2,8)	0-9,7
H/L	1,12 (0,6)	0,2-2,8	0,83 (0,3)	0,3-1,42

3.5. Discusión

La comparación estadística de los recuentos celulares totales entre arroyos con distinto impacto de contaminación arrojó diferencias significativas solo para *H. tectifera*. Las medias de los recuentos de ambos tipos celulares totales resultaron menores para la muestra del A° El Gato respecto de las correspondientes de los restantes arroyos, aunque siendo estadísticamente significativos para el RTE (Recuento Total de Eritrocitos) pero no para el RTL (Recuento Total de Leucocitos). Si bien resulta complejo determinar cuáles son las causas que generan desordenes a nivel eritrocitario en poblaciones naturales, la anemia suele ser asociada a un estado nutricional pobre en la mayoría de los reptiles en función de que los índices de glóbulos rojos se utilizan para determinar la condición, nutrición y estado de salud general de los individuos (Campbell 2006). En un trabajo realizado en la tortuga *Podocnemis expansa* (Tavares-Dias et al. 2009) se obtuvieron valores inferiores en la cantidad de eritrocitos y leucocitos en individuos en estado de desnutrición respecto de individuos en buen estado de salud de la misma especie, mientras que no obtuvieron diferencias en la masa corporal entre las tortugas de ambos grupos. Similarmente, el análisis comparativo de ICC (Índice de Condición Corporal) entre las poblaciones de *H. tectifera* realizado en el

Capítulo 2 de esta tesis tampoco arrojó diferencias significativas, con lo cual un estado nutricional deficiente no necesariamente se expresa en variables como el peso y la talla (más esperable para el primero), al menos en un estado de desnutrición temprano. Se ha comprobado, además, que las tortugas son animales muy resistentes que pueden mantenerse en actividad aun cuando están cursando anemias severas (Christopher et al. 2003, Norton 2005). Otro posible causal de alteraciones en los valores eritrocitarios en reptiles en general es la hibernación, siendo más alta la concentración de eritrocitos antes del período invernal y comparativamente mucho menor inmediatamente después del mismo, como ha sido observado para muchas especies de reptiles (Arikan y Çiçek 2014). En el presente caso, al tratarse de una tortuga que no experimenta hibernación y se encuentra activa durante todo el ciclo anual (aunque su actividad puede bajar durante los meses más fríos), esta no sería una explicación plausible para los resultados aquí obtenidos, además de que las muestras del A° El Gato fueron tomadas a comienzo del verano. Por otra parte, la anemia asociada a una baja producción de glóbulos rojos también puede tener relación con inflamaciones sistémicas, infecciones virales, o exposición crónica a una mala calidad ambiental (Lutcavage et al. 1995, Adnyana et al. 1997, Sykes y Klaphake 2008). En un estudio comparativo en el que se midieron parámetros hematológicos en las tortugas de agua dulce *Emys orbicularis* y *Mauremys rivulata* provenientes de sitios con distinta calidad ambiental (Tosunoglu et al. 2011) se obtuvieron resultados opuestos a los observados para *H. tectifera* en la presente tesis: los conteos eritrocitarios y leucocitarios totales resultaron mayores en los sitios con peor calidad de agua para ambas especies. Los autores sugieren que los resultados estarían relacionados con una mayor producción de eritrocitos frente a la baja concentración de oxígeno y de leucocitos en respuesta a la presencia de contaminantes ambientales. Si bien algunas especies de tortugas dulceacuícolas por su hábito de vida han desarrollado zonas especializadas para el intercambio gaseoso en la cloaca y la faringe (ej., *Apalone triunguis*, *Rheodytes leukops*, *Podocnemis* sp.), en los reptiles la respiración pulmonar representa la principal fuente de intercambio gaseoso (Pough et al. 1998). Por lo tanto, la idea de una mayor producción de eritrocitos frente a una baja concentración de oxígeno en el agua no sería una explicación aplicable a cualquier contexto ni para la mayoría de las especies.

Además, contrariamente a lo observado en *H. tectifera*, los RTE y RTL de *P. hiliarii* no difirieron significativamente entre arroyos, a su vez que la comparación entre especies arrojó diferencias significativas en los recuentos totales de ambos tipos celulares para el mencionado arroyo, pero no para los restantes arroyos estudiados (Tabla 62). Si bien puede haber diferentes respuestas fisiológicas a nivel específico debido a sus distintos modos de vida, en principio sería esperable que una mala calidad ambiental afecte igualmente a las tortugas que habitan sitios impactados independientemente de la especie, tal como se observó en otros trabajos (Tosunoglu et al. 2011). Así, las diferencias entre las especies estudiadas a nivel de conteos celulares no serían una generalidad, sino algo que sucede bajo determinados contextos. Por tanto, más allá del origen de las bajas concentraciones de glóbulos rojos y blancos observadas en la población de *H. tectifera* del A° El Gato, en base a los resultados obtenidos en esta tesis para la especie en general, puede decirse que la mencionada población se encuentra en un peor estado de salud o nutricional respecto de las poblaciones de la especie que habitan otros cursos de agua (no tan disturbados o casi sin impacto), e incluso respecto de las tortugas *P. hiliarii* que cohabitan ese arroyo.

Por otra parte, los conteos celulares totales obtenidos en promedio para *P. hiliarii* en el presente estudio fueron comparativamente menores a los respectivos obtenidos por Latorre et al. (2015) para individuos cautivos de la misma especie: el RTE y el RTL resultaron casi tres y dos veces menores, respectivamente. El perfil leucocitario también fue muy diferente: casi todos los tipos leucocitarios resultaron mayores en esta tesis, a excepción de los linfocitos cuyo valor fue casi la mitad del obtenido por Latorre et al. (2015). Diversos estudios comparativos entre tortugas cautivas y silvestres de otras especies también coinciden en un mayor número de glóbulos blancos en las primeras respecto de las segundas, así como diferencias en el perfil leucocitario (O'Connor et al. 1994, Brenner et al. 2002, Rangel-Mendoza et al. 2009, Keller et al. 2012). En general, los factores que más influyen en las variables hematológicas se relacionan con las condiciones desfavorables a las que muchas veces están expuestas las poblaciones cautivas: mala calidad del agua, mayores temperaturas, hacinamiento y un mal estado nutricional causado por la dieta artificial. Otra tendencia que se observa es una mayor concentración de eosinófilos en las tortugas silvestres

respecto de las cautivas. Este tipo celular aumenta principalmente frente a infecciones por parásitos a los que suelen estar expuestas las poblaciones naturales, ya que muchas veces se necesitan hospedadores intermediarios que generalmente no están presentes en los ambientes artificiales. Coincidentemente, el porcentaje de eosinófilos obtenido para *P. hilarii* por Latorre et al. (2015; 2,12%,) fue inferior al obtenido aquí para todos los arroyos estudiados, llegando en algunos casos a ser el tipo celular que explica el 30% del perfil leucocitario (Tabla 59). A su vez, la presencia de parásitos nemátodos gastrointestinales fue registrada para la especie en el sector B2 del A° Buñirigo (Alcalde et al. 2010, Palumbo et al. 2016) y en el marco de estudios paralelos a la presente tesis para el sector B1 del A° Buñirigo y el A° Tubichamini (datos no publicados).

En general, los tipos leucocitarios más frecuentes en las muestras de ambas especies fueron heterófilos y linfocitos, seguidos por eosinófilos y monocitos, mientras que los basófilos tuvieron frecuencias comparativamente mucho más bajas. Este último tipo celular en la mayoría de los casos no superó el 1% del perfil leucocitario (razón por la que fue excluido de los análisis estadísticos), en concordancia con lo citado para *P. hilarii* por Latorre et al. (2015). Por su parte las comparaciones estadísticas entre arroyos basadas en el perfil leucocitario, arrojaron diferencias significativas para ambas especies. En *H. tectifera* las diferencias se dieron en la concentración de heterófilos y en la relación H/L (heterófilos/linfocitos), mientras que en *P. hilarii* las diferencias se dieron en prácticamente todos los tipos leucocitarios (a excepción de la concentración de monocitos). Para ambas especies, los test a posteriori no arrojaron agrupaciones contrastantes claras respecto del grado de impacto de cada arroyo, contrariamente a lo que se esperaba. En *H. tectifera*, el mayor contraste se dio entre las poblaciones de los A° Rodríguez y Tanti, dado que la concentración media de heterófilos y el índice H/L obtenidos para la primera resultaron dos y cuatro veces mayores que los obtenidos para la segunda, respectivamente. Los heterófilos suelen predominar en la sangre periférica de individuos en buen estado de salud. Sin embargo, un aumento en la cantidad de heterófilos (heterofilia) puede tener orígenes patológicos (ej. septicemia, inflamación causada por parásitos y bacterias, daño y necrosis tisular) así como fisiológicos, asociados al sexo, la estación del año y el estado reproductivo (Campbell 2006). Para el

presente caso, pueden descartarse algunos de los últimos factores como causantes de las diferencias entre ambos arroyos: las muestras fueron tomadas en ambos sexos y siempre en los meses de primavera-verano. Además, no se registraron diferencias en los parámetros hematológicos entre tortugas con y sin úlceras en el caparazón para ninguno de los arroyos estudiados, por lo que la mayor proporción de heterófilos del A° Rodríguez tampoco tendría en principio un origen patológico evidente. Esto sugiere que la heterofilia obtenida en las *H. tectifera* del A° Rodríguez pueda deberse a la presencia de contaminantes ambientales y la mala calidad del agua propia de este arroyo, tal como se demostró para otras especies de tortugas dulceacuícolas y marinas (Keller et al. 2004, Chaffin et al. 2008, Polo Cavia et al. 2010, Yu et al. 2011). Sin embargo, si bien el porcentaje de heterófilos tuvo su máximo valor para las tortugas del A° Rodríguez, éste no fue significativamente diferente a otros arroyos poco impactados (ej., Sauce Grande y Toro Muerto, ver Resultados), al igual que el índice de stress H/L. En tal sentido, resulta claro que es imprescindible realizar estudios más específicos especialmente diseñados para dilucidar si estos parámetros sanguíneos se relacionan en forma directa, o no, con la condición del ambiente que habitan y así poder establecer bajo qué contextos específicos suceden tales alteraciones. Por otra parte, dado que este tipo celular representa la primera barrera del sistema inmune frente a diversos patógenos (Strick et al. 2007), una alta concentración de heterófilos muchas veces se debe a una infección por parásitos. En un estudio sobre parasitosis de nemátodos en *H. tectifera* realizado en el mismo sector del mencionado arroyo (Palumbo et al. 2021), se encontraron altas prevalencia y abundancia de parásitos en las tortugas cuyos máximos valores ocurrieron en verano (casi 100% de prevalencia), coincidentemente con el momento del año en el que se tomaron las muestras sanguíneas en el presente estudio. A su vez, estos valores fueron comparativamente menores para la población de la misma especie proveniente del A° Tanti según datos no publicados del mismo autor (Palumbo et al. 2014). Por lo tanto, la parasitosis diferencial entre ambos arroyos puede estar explicando las diferencias obtenidas en el porcentaje de heterófilos.

En cuanto a la especie *P. hylarii*, por un lado, se obtuvo una clara separación entre el A° El Gato y los demás arroyos estudiados en base al porcentaje de heterófilos, lo que se adecúa

a lo esperado debido a la mala calidad del agua que padece este arroyo (situación similar a lo referida anteriormente para las *H. tectifera* del A° Rodríguez). En tal sentido, es coherente que para esta población se haya obtenido un valor alto de índice de stress por representar la mala calidad del agua un factor de stress crónico. Sin embargo, el mismo resultó significativamente diferente de otro sitio también muy impactado por actividad industrial como es el sector B2 del A° Buñirigo, y no lo fue de sitios de mejor calidad como los A° Tubichamini y el sector B1 del A° Buñirigo. Por otra parte, se obtuvo una proporción de linfocitos significativamente mayor en los sectores B1 y B2 del A° Buñirigo, respecto del A° Tubichamini, mientras que el A° El Gato no difirió de ninguno de ellos. Dentro de estos mismos sectores (B1 y B2), la comparación entre especies del porcentaje de linfocitos resultó significativamente mayor para *P. hylarii* respecto de *H. tectifera* (Tabla 8). Los leucocitos son uno de los tipos leucocitarios más abundantes en la sangre periférica de tortugas y reptiles en general (Knotkova et al. 2002, Strick et al. 2007, Rangel-Mendoza et al. 2009, Perpiñán et al. 2008, Heatley y Russell 2010, Harris et al. 2011, Omonona et al. 2011, Rossini et al. 2012, Scheelings y Rafferty 2012, Lewbart et al. 2014). La linfocitosis (aumento en el número de linfocitos) se da generalmente frente a procesos inflamatorios e infecciones crónicas, así como durante la cicatrización de heridas (Strick et al. 2007). En líneas generales, las tortugas de *P. hylarii* capturadas en ambos sectores del A° Buñirigo estaban en buen estado de salud general, sin heridas o daños recientes graves. Si se los compara con otras especies, los valores promedio obtenidos en estos sitios en principio podrían no ser anormales. De todos modos, no debe descartarse que estas tortugas pudieran estar atravesando algún proceso inflamatorio subclínico que pudiera no verse expresado en su comportamiento o estado corporal general. Igualmente, es importante contar con valores hematológicos de referencia para poblaciones silvestres de la especie en cuestión con los cuales realizar comparaciones, dada la gran variabilidad que existe a nivel específico. Similarmente a los resultados obtenidos para *H. tectifera*, sería interesante establecer cuáles son los parámetros del ambiente que más influyen en las variaciones leucocitarias, así como los rangos de tolerancia de las especies, para determinar con mayor confianza a que puedan deberse las agrupaciones encontradas entre arroyos con diferente nivel de contaminación.

Por último, contrariamente a lo esperado, no hubo diferencias significativas en las variables hematológicas entre ejemplares de *H. tectifera* con y sin úlceras en ninguno de los arroyos estudiados, a excepción del A° Rodríguez donde incluso se obtuvo un valor de RTL menor para las *H. tectifera* ulceradas respecto de las no ulceradas (Tabla 57). Tal como fuera constatado en la bibliografía, la presencia de infecciones generalizadas, así como heridas severas en el caparazón, provocan respuestas inmunitarias que se traducen principalmente en alteraciones en el número de eritrocitos y leucocitos, basofilia, heterofilia, eosinofilia y linfocitosis (Knotkova et al. 2005, Özvegy et al. 2015). Por ello, los resultados aquí obtenidos resultan muy llamativos. Sería interesante analizar estos parámetros hematológicos en una serie temporal de ejemplares seleccionados. Esto permitiría determinar en qué momento del desarrollo de las ulceraciones comienza a dispararse la abundancia de los distintos tipos celulares, dado que hubo variación en el grado de ulceración que presentó cada individuo de la categoría “ulcerado” en el presente estudio (de menor a severo), tal vez enmascarando las posibles diferencias en las variables hematológicas analizadas. Cabe aclarar que no se incluyó en este estudio a los individuos con un estado de la enfermedad ulcerativa muy avanzado, los cuales fueron mantenidos en cautividad poco tiempo hasta su muerte (ver Capítulo 2), para evitar sumar factores de stress que colaboren con un mayor deterioro de los mismos.

Es importante destacar que los valores hematológicos aquí obtenidos deben ser considerados en el contexto en que fue realizado este estudio: cursos de agua con distinto tipo de contaminación, estación de captura primavera-verano, individuos adultos de ambos sexos e individuos sanos y ulcerados generalmente en proporciones iguales. De todas maneras y, a modo general, los datos obtenidos evidencian una tendencia de ciertos parámetros hematológicos que indican un peor estado sanitario en las poblaciones de los arroyos más impactados (ej., *H. tectifera* del A° El Gato) tanto en una misma especie entre distintos cursos de agua como entre ambas especies cohabitando un mismo arroyo. Sin embargo, estas tendencias no son concluyentes dado que las agrupaciones en base a algunos de los parámetros sanguíneos se dieron entre arroyos con diferente grado de impacto. Evidentemente, como ya se señaló, es importante profundizar el estudio de la temática,

principalmente para aumentar el número de muestras y evitar posibles sesgos que puedan ser atribuibles a muestras no representativas de la condición sanitaria de algunas de las poblaciones estudiadas.

Por último, el presente estudio representa el primero sobre parámetros hematológicos en la especie *H. tectifera* y el único acerca de parámetros hematológicos de *P. hilarii* en el área más austral de su distribución (arroyos tributarios del Río de La Plata). Los resultados obtenidos para los ejemplares sanos de ambas especies en arroyos sin impacto urbano, agrícola e industrial evidente pueden ser tomados como valores hematológicos de referencia con los cuales realizar futuras comparaciones con otras poblaciones de ambas especies, ante distintos escenarios ambientales.

Capítulo 4. El rol del comportamiento de asoleamiento en la condición sanitaria de las tortugas: el caso de *Hydromedusa tectifera*

4.1. Introducción

El asoleamiento es el hábito de muchos animales ectotermos de exponer su cuerpo o una parte de él a la radiación solar mientras permanecen inmóviles. Este comportamiento es muy frecuente entre los reptiles y particularmente marcado en tortugas de agua dulce (Bulté y Demmers 2010). Su funcionalidad estaría relacionada con diversos aspectos, entre ellos la elevación de la temperatura corporal para acelerar la digestión y aumentar la energía disponible para el crecimiento y la reproducción, el secado de la superficie corporal para controlar hongos, algas, ectoparásitos e infecciones bacterianas y mantener buenas condiciones de la piel, colaborar con la ecdisis y la síntesis de vitamina D, además de descansar y facilitar la respiración, particularmente en cursos de agua correntosos (Chessman 1987). Si bien el asoleamiento en muchas especies de tortugas dulceacuícolas estaría vinculado principalmente con el control de la temperatura corporal, también se ha comprobado su práctica en tortugas termoconformistas por lo que su funcionalidad principal en esos casos no queda del todo clara (Manning y Grigg 1997). La conducta de asoleamiento está influenciada por varios factores entre los que se encuentran sexo, estación del año y estado nutricional de los individuos (Hammond et al. 1988), por lo que representa un comportamiento complejo con distintas variables a tener en cuenta.

Las tortugas de agua dulce suelen adoptar dos modalidades de asoleamiento típicas: aéreo o atmosférico (fuera del agua) o subacuático (dentro de la columna de agua). En el primero, los individuos emergen por completo del curso de agua y permanecen sobre las márgenes u otros sustratos (troncos, embalsados, etc.), en general con el cuello y las extremidades extendidas, quedando todas las partes del cuerpo expuestas a la incidencia solar (Moll y Legler 1971). En el caso del asoleamiento acuático, las tortugas pueden flotar bajo la superficie del agua o bien permanecer apoyadas en los sectores más cálidos y de menor variación

térmica del lecho del cauce (Moll y Legler 1971, Auth 1975, Ernst 1986, Fitzgerald y Nelson 2011, Picard et al. 2011, Chessman 2019). Además, algunas especies pueden practicar modalidades intermedias semiacuáticas, con el caparazón expuesto al aire y el resto del cuerpo sumergido en aguas someras (Boyer 1965, Auth 1975).

Por lo general, existe una relación estrecha entre la forma de asoleamiento de la especie y su hábito de vida, así como con los ambientes que habita. Dentro de la familia Chelidae, la forma de asoleamiento que practican las tortugas es variable entre las especies (Webb 1978). Tal como se expuso en capítulos anteriores, *Hydromedusa tectifera* es una especie exclusivamente acuática que abandona el agua solo en ocasión de realizar la puesta de huevos o para desplazarse entre cuerpos de agua. La bibliografía sobre la conducta de asoleo en esta especie se basa solo en comentarios aislados mayormente basados en observaciones sobre ejemplares cautivos, como las de Astort (1983), quien observó que estas tortugas practican asoleamiento acuático en agua somera durante el verano, presumiblemente con fin de termorregulación. En un estudio más reciente sobre asoleamiento para otras especies de tortugas de agua dulce se observó a *H. tectifera* asoleándose en dos oportunidades, sin más detalle (Clavijo-Baquet y Magnone 2017). Su especie hermana endémica del Bosque Atlántico del sur de Brasil, *H. maximiliani*, parece compartir los mismos hábitos que *H. tectifera*: modo de vida predominantemente acuático y asoleamiento dentro del agua (Souza y Martins 2006). Por otro lado, las tortugas del género *Phrynops* tienen hábitos mayormente diurnos y practican asoleamiento aéreo (Souza 2004, Kunz 2018). En cuanto a la especie *P. hilarii*, varios estudios en poblaciones naturales comprobaron esta modalidad (Richard 1998, Clavijo-Baquet y Magnone 2017, Semeñiuk y Alcalde 2017). La elección del sustrato de asoleamiento es variable en esta especie, siendo lo más común verlas sobre troncos u otros objetos semisumergidos y en las márgenes del cauce (Fig. 72). Esta actividad pueden realizarla de manera solitaria o gregaria, lo que favorecería una respuesta coordinada frente a estímulos externos (Cabrera 1998). Richard (1998) describe además una modalidad de asoleamiento subacuática que observó durante los meses más cálidos del año para la especie. En esta modalidad las tortugas se asolean bajo el agua, con los miembros y el cuello totalmente extendidos, asomando únicamente las narinas.



Figura 72. Asoleamiento aéreo en *P. hilarii*, A° Buñirigo (Magdalena, Pcia. de Bs. As.).

En el contexto del presente trabajo de tesis, la importancia del modo de asoleamiento que practica cada una de las especies estudiadas radica en su posible relación con el secado o no del caparazón y el consecuente desarrollo de las colonias bacterianas que intervienen en la enfermedad ulcerativa del mismo. Dado que el secado del cuerpo contribuye con la remoción de organismos patógenos que crecen sobre el caparazón y otras superficies corporales, el hecho de mantener siempre húmedo el cuerpo genera condiciones desfavorables para la cicatrización de heridas y úlceras, y eventualmente facilita su evolución en infecciones de mayor gravedad (como septicemias). En resumen, las observaciones preliminares propias junto a la escasa evidencia publicada sugieren que *H. tectifera* practica algún tipo de asoleamiento subacuático, algo que resulta esperable en virtud del modo de vida de la especie (más caminador de fondo que nadador).

Por otro lado, en un estudio realizado en Córdoba en dos poblaciones de la especie, que son parte de las poblaciones estudiadas en la presente tesis, se constató que *H. tectifera* tiene una estrategia termoconformista y euriterma, probablemente asociada a sus hábitos acuáticos y a su actividad nocturna, lo que dificultaría obtener fuentes de calor disponibles

en horas sin incidencia del sol (Molina y Leynaud 2017). En principio, y considerando las evidencias de ese trabajo, debería descartarse que el asoleamiento subacuático que presuntamente realiza esta especie tenga relación directa con la regulación de la temperatura corporal. No obstante, el mencionado estudio fue realizado en horario vespertino-nocturno, por considerar que la especie está activa solo durante la noche. Si bien su mayor actividad ocurre en la noche y en las horas próximas (atardecer-amanecer), según se pudo observar en el marco del presente y otros estudios (Alcalde et al. 2021), la especie se encuentra activa durante todo el día. Por esta razón, aquí también se propone evaluar si, durante las horas de exposición al sol, su temperatura corporal aumenta o no por sobre la temperatura del agua.

4.2. Objetivos e hipótesis

El presente capítulo tiene como objetivos:

- ✓ Comprobar si las poblaciones naturales de *Hydromedusa tectifera* practican efectivamente asoleamiento subacuático y describir esta conducta.
- ✓ Evaluar si la temperatura corporal de *H. tectifera* aumenta respecto de la ambiental durante las horas de exposición al sol.
- ✓ Analizar si hay diferencias en la práctica de asoleo entre estaciones del año, sexos y edades de los individuos de la especie.

Las hipótesis que se busca testear son:

1) La conducta de asoleamiento en la especie *H. tectifera* guarda relación con sus hábitos exclusivamente acuáticos.

Predicción: las tortugas de *H. tectifera* practicarán asoleamiento dentro del agua, siendo muy infrecuente el modo de asoleamiento aéreo en esta especie.

2) La temperatura corporal de *H. tectifera* está influenciada por la temperatura ambiental durante el asoleamiento.

Predicción: la temperatura corporal de las tortugas de *H. tectifera* no diferirá de la temperatura del agua durante la exposición al sol.

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Área de estudio

El presente estudio se realizó en un tramo de la cuenca media del A° Rodríguez (Partido de La Plata, Buenos Aires), el cual se seleccionó por una combinación de factores: abundancia de la especie, grandes áreas con profundidad relativamente baja, buena visibilidad en la columna de agua, baja cobertura de macrófitas y alternancia de zonas con sol y sombra a lo largo del día (Fig. 73).



Figura 73. Tramo medio del A° Rodríguez (Partido de La Plata).

4.3.2. Muestreos

Los muestreos se realizaron mensualmente en dos períodos que no pudieron ser solo uno a causa de la pandemia de COVID-19 (agosto 2019-marzo 2020 y abril 2021-agosto 2021), completando así un ciclo anual de muestreos mensuales en todos los meses de cada estación (a excepción del mes de febrero en cual no pudo realizarse). Cada muestreo se llevó a cabo durante dos días soleados consecutivos, uno en horario matutino (entre las 3 y 4h posteriores a la salida del sol) y otro vespertino (comenzando en el horario de finalización

del primer día de muestreo). Los muestreos de junio a agosto se realizaron en un solo día, debido a la menor duración de horas de sol. Se alcanzó un total de 54 h de observación. Cada día de muestreo dos observadores, uno por margen del arroyo, caminaron un trayecto de 1600 m en sentido oeste-este, ida y vuelta (con una pausa de 15 minutos entre ambas), totalizando 3200 m de caminata cada día (Fig. 74).



Figura 74. Vista aérea del tramo muestreado del A° Rodríguez. Las líneas punteadas indican el recorrido realizado en cada día de muestreo.

En el contexto de este estudio, se consideró que una tortuga estaba en conducta de asoleamiento cuando se encontraba quieta en cualquier sector del arroyo con incidencia directa del sol sobre su caparazón y el resto del cuerpo. Cada vez que en el trayecto se detectó una tortuga asoleándose se procedió a: 1) fotografiarla, 2) capturarla para el registro de los datos (ver más abajo) y 3) liberarla previa realización de una marca en el caparazón según Cagle (1939), para luego retomar el recorrido correspondiente. Cada individuo que estaba asoleándose fue contabilizado una única vez por día de muestreo. Además, se registró visualmente el número de tortugas que estaban realizando actividades distintas al

asoleamiento (ej. alimentación, copula, desplazándose) o que estaban quietas en la sombra, solo durante el trayecto de ida y no de vuelta, para evitar dobles conteos.

4.3.3. Toma de datos

Para cada tortuga en conducta de asoleamiento se registraron los siguientes datos, en el orden siguiente:

- Posición de asoleamiento registrada visualmente previo a la captura: (1) totalmente sumergida, (2) semisumergida horizontal, (3) semisumergida vertical, y (4) fuera del agua (ver detalle de cada tipo en la sección Resultados). Para las posiciones 1 a 3 además se registró la profundidad existente entre el dorso medio del caparazón y la superficie del agua.
- Temperatura cloacal y bucal: tomadas inmediatamente a la captura y al nivel de la superficie del agua, empleando un termómetro digital (precisión $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$, Lutron WA-2015).
- Sexo: según caracteres dimórficos (Cabrera 1998).
- Longitud Recta del Caparazón (LRC)
- Peso (P)
- Presencia de úlceras en el caparazón
- Hora
- Temperatura del aire (T_{aire}): tomada a 5 cm de la superficie del agua en el sitio de captura.
- Temperatura del agua (T_{agua}): tomada a 5-10 cm de profundidad en el sitio de captura.

Además, al inicio y al final de cada día de muestreo se tomaron los datos de temperatura del aire (a un m del nivel del suelo) y del agua (a 5-10 cm de profundidad, en el cauce medio y el margen). La Figura 75 resume la metodología empleada en el trabajo de campo.

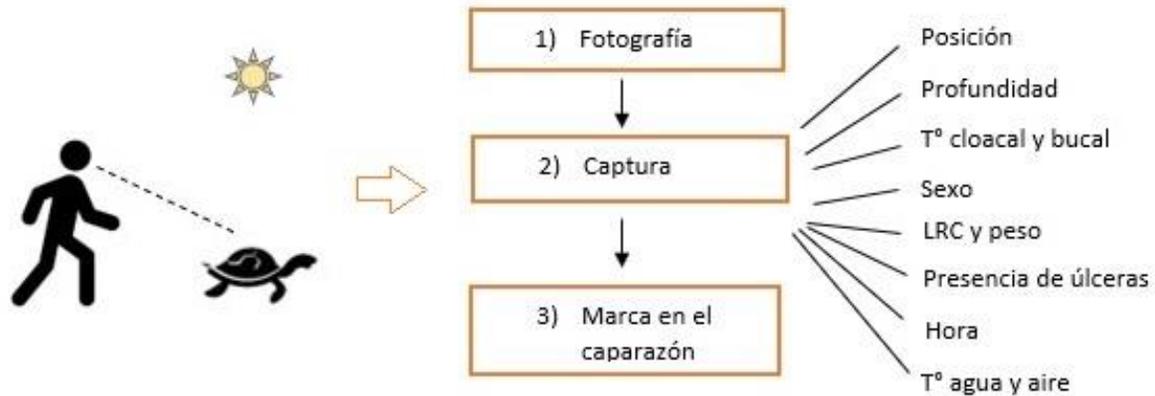


Figura 75. Resumen de la metodología realizada en campo.

4.3.4. Análisis estadísticos

Las diferencias de asoleamiento entre estaciones se evaluaron por medio del análisis de la varianza (ANOVA) de una vía, con el número de tortugas en asoleo como variable dependiente y la estación como factor. Para conocer si ambos sexos se asolean equitativamente, la proporción de sexos de los individuos en conducta de asoleamiento se comparó con la proporción esperada 1:1 por medio del test Chi cuadrado (χ^2), excluyendo a los juveniles en los que no se pudo determinar el sexo. La proporción M:H no es significativamente distinta de 1:1 en este arroyo (ver Capítulo 2). La asociación entre estación (agrupadas en primavera-verano y otoño-invierno para aumentar el N y cumplir con las condiciones del test) con sexo y edad (adultos= LRC>150mm; juveniles= LRC<150mm) se evaluó por medio del test χ^2 .

Por otro lado, la temperatura corporal (T_c = promedio entre las temperaturas cloacal y bucal) fue comparada para sexo, edad y posición de asoleamiento por medio de la prueba t para comparación de dos medias.

Para analizar la relación existente entre la T_c y las temperaturas del ambiente (T_{agua} y T_{aire}), la profundidad y las medidas morfométricas de los individuos (LRC y P) se realizó una regresión lineal múltiple, tomando la T_c como variable dependiente y el resto de las variables como regresoras. Previamente se testeó la existencia de correlación entre las variables

regresoras (profundidad, Tagua, Taire, LRC y P) y se excluyó aquellas que tuvieron una correlación alta (Coeficiente de Correlación r de Pearson $> 0,6$) para evitar sesgos por multicolinealidad.

En todos los análisis el nivel de significancia fue $p < 0,05$. Todos los análisis fueron realizados por medio de los softwares InfoStat (versión 2020; Di Rienzo et al. 2020) y Sigma Plot (versión 14.5).

4.4. Resultados

Durante los muestreos se avistó un total de 183 tortugas de las cuales el 36,3% ($n=69$) se encontraban practicando asoleamiento, según se ha definido para el presente estudio. Las 114 tortugas restantes se hallaron realizando otra actividad o bien se encontraban quietas en la sombra (Fig. 76). Hubo unas pocas ocasiones en que se observaron tortugas quietas al sol, con su cuerpo enteramente sumergido, excepto el cuello que se hallaba estirado fuera del agua. Es probable que esos individuos estuvieran practicando asoleamiento subacuático, pero, debido a la distancia, escaparon antes de poder capturarlas y las mismas no pudieron contabilizarse.

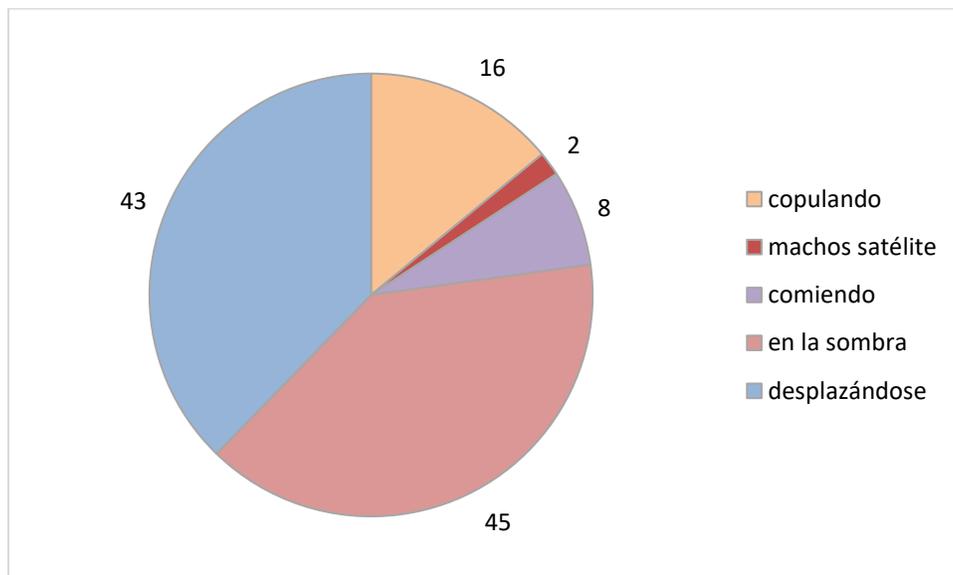


Figura 76. Número de tortugas *H. tectifera* avistadas realizando actividades distintas al asoleamiento.

Las 69 tortugas que se estaban asoleando lo hacían de manera individual y resultaron ser 42 adultos (18 hembras y 24 machos) y 27 juveniles, en los que no se pudo determinar el sexo. Para las mismas se verificaron las siguientes posiciones de asoleamiento:

- a) Sumergida: cuerpo totalmente debajo del agua pudiendo presentar cuello y patas extendidas o retraídas dentro del caparazón (Fig. 77A).
- b) Semisumergida horizontal: cuerpo en posición horizontal apoyado sobre el fondo del cauce, espaldar total o parcialmente expuesto al sol a causa de la escasa profundidad de la columna de agua, con plastrón siempre sumergido y extremidades extendidas o retraídas, aunque siempre bajo agua y cuello retraído (bajo el agua) o extendido (dentro o fuera del agua) (Fig. 77B).
- c) Semisumergida vertical: cuerpo en posición semi vertical u oblicua (a causa de apoyar las extremidades anteriores sobre el margen del arroyo u algún objeto sumergido), caparazón totalmente sumergido o parcialmente expuesto fuera del agua en su porción anterior, extremidades siempre extendidas bajo el agua y cuello extendido fuera del agua (Fig. 77C).
- d) Fuera del agua: tortuga apoyada sobre el margen del arroyo, muy cercana al agua, pero totalmente fuera de ella, pudiendo presentar cuello y patas extendidos o retraídos (Fig. 77D).



Figura 77. Posturas de asoleamiento observados en *H. tectifera*: A) sumergida; B) semisumergida horizontal; C) semisumergida vertical; D) fuera del agua.

La posición de asoleo “sumergida” fue la que predominó ampliamente, representando el 77% de las observaciones (53 casos). En segundo lugar, estuvo la posición “semisumergida horizontal” con 12 casos (17 %), mientras que las posiciones “semisumergida vertical” y “fuera del agua” fueron observadas en una y tres tortugas respectivamente (Fig. 78).

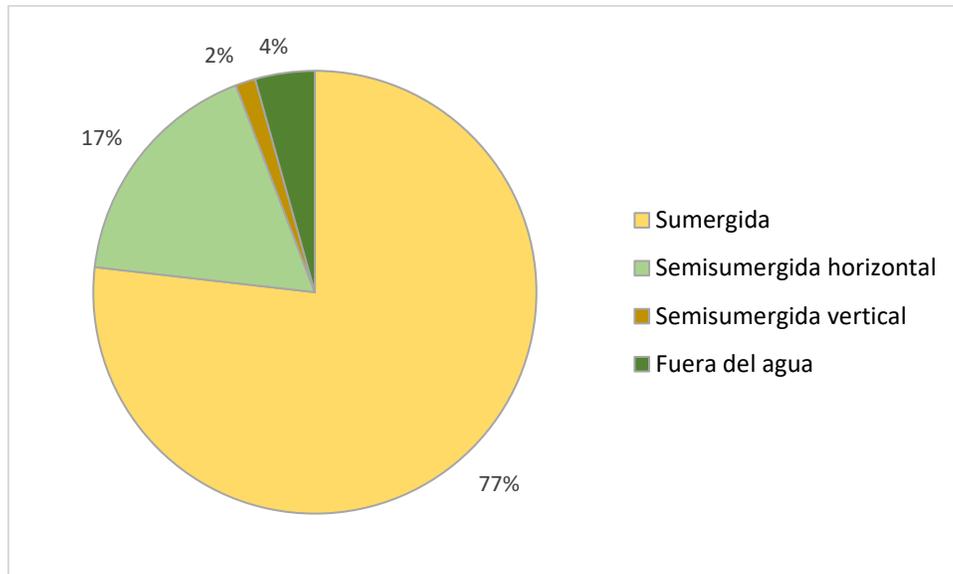


Figura 78. Porcentaje de tortugas *H. tectifera* observadas asoleándose según posición.

Por otro lado, de las tortugas que fueron observadas en conducta de asoleamiento, solo tres de ellas (dos machos y una hembra) presentaron úlceras en el caparazón. En los tres casos las mismas se hallaban practicando la modalidad “sumergida”.

De manera general, más de la mitad de las observaciones ocurrieron durante la primavera ($n=43$) seguido por las estaciones otoño ($n=12$) e invierno ($n=11$), siendo menor el número de observaciones correspondientes al verano ($n=3$; Fig. 79). Asimismo, la comparación estadística entre estaciones arrojó que el número de tortugas asoleándose en primavera fue significativamente más alto que para el resto de las estaciones ($F=9,5$; $p=0,007$; $gl=3$). A su vez, la posición de asoleamiento “sumergida” estuvo presente en todas las estaciones del año con predominio en la primavera. Resultados similares se obtuvieron para la posición “semisumergida horizontal”, con excepción del otoño en el cual no se registró esta posición. Las restantes posiciones (“semisumergida vertical” y “fuera del agua”) fueron observadas únicamente durante el invierno (Fig. 79).

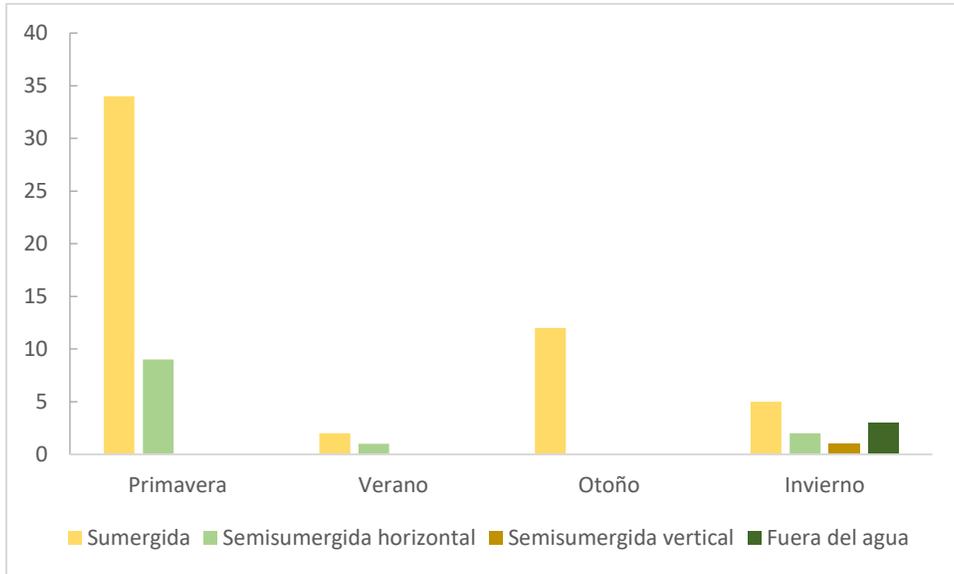


Figura 79. Número de tortugas *H. tectifera* asoleándose por estación del año, según posición.

Por otro lado, no hubo diferencias en la proporción de sexos de los individuos que practicaron asoleamiento ($X^2= 0,3$; $p= 0,01$; $gl= 1$) ni asociación entre el sexo y las estaciones más frías (otoño-invierno) o más cálidas (primavera-verano) del año ($X^2= 0,51$; $p= 0,47$; $gl= 1$; Tabla 64). En cuanto al análisis de asociación entre edad de los individuos y estación (primavera-verano y otoño-invierno), el número de juveniles que se asolearon durante los meses de otoño-invierno fue significativamente menor ($X^2= 0,86$; $p= 0,35$; $gl= 1$; Tabla 65).

Tabla 64. Numero de tortugas asoleándose según estación del año y sexo.

	Primavera-Verano	Otoño-Invierno	Total
Hembras	11	7	18
Machos	12	12	24
Total	23	19	42

Tabla 65. Numero de tortugas asoleándose según estación del año y edad.

	Primavera-Verano	Otoño-Invierno	Total
Adultos	23	19	42
Juveniles	23	4	27
Total	46	23	69

En cuanto a la hora del día, se observó que la amplia mayoría de las tortugas que practicaron asoleamiento (88,4%) lo hicieron entre las 11:00h y las 17:00h (Fig. 80). En esta franja horaria la temperatura promedio del agua y el aire al momento de la captura rondó los 21°C y 22°C respectivamente (Fig. 80). Durante las primeras horas de la mañana (9:00-11:00) la abundancia de tortugas observadas en asoleo fue comparativamente más baja, y coincidentemente la temperatura promedio del agua tomó los valores más bajos registrados. El otro momento con baja abundancia fue durante la última hora de la tarde, para la cual el promedio de la Tagua estuvo entre los valores más altos registrados (Fig. 80).

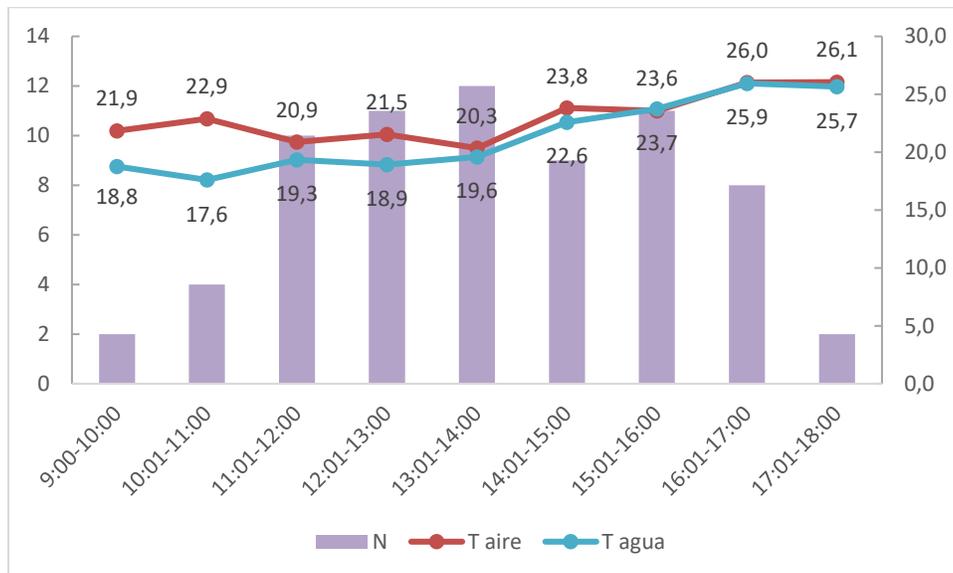


Figura 80. Número de tortugas (N) asoleándose por hora y correspondientes temperaturas de aire (Taire) y agua (Tagua).

Al desagregar los datos por estación del año, se verifica que en primavera el asoleamiento ocurrió durante todas las horas de muestreo, aunque con una distribución bimodal con picos en los rangos horarios de 11:00-13:00 h y 15:00-17:00 h (Fig. 81). En cambio, en el resto de las estaciones el asoleamiento en general se observó entre las 11:00h y las 16:00h de manera aproximadamente continua y, particularmente en el otoño, los datos se tornan unimodales con pico en el horario de las 13:00h.

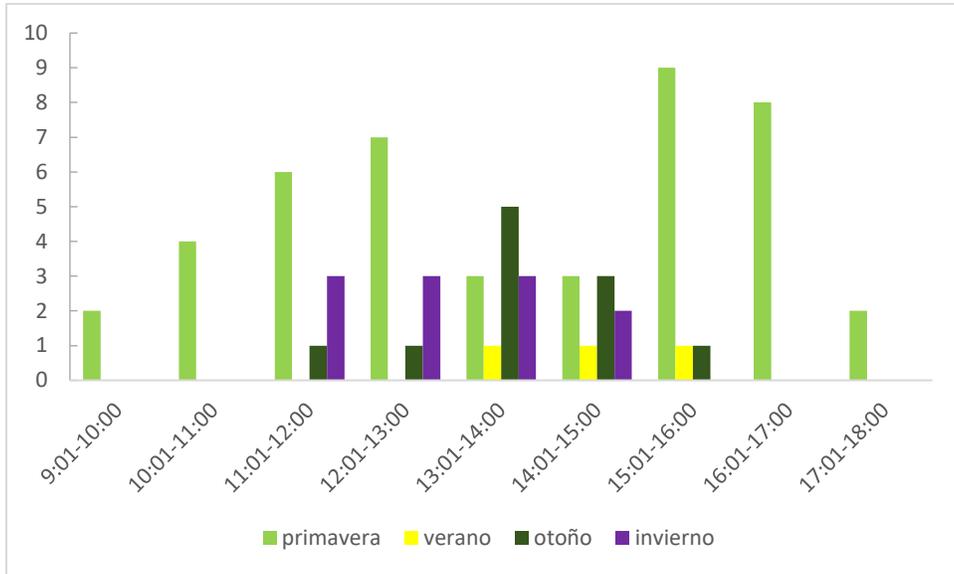


Figura 81. Número de tortugas *H. tectifera* observadas asoleándose por hora según estación del año.

Respecto a los análisis relacionados con la temperatura corporal (T_c) de los individuos, el análisis comparativo entre sexos en base a la T_c no arrojó diferencias significativas ($t= 0,56$; $p= 0,58$; $gl= 40$), mientras que la T_c registrada para los adultos (ambos sexos juntos) fue significativamente menor que para los juveniles ($t=-2,7$; $p= 0,009$; $gl=55$).

Por otro lado, la comparación estadística de la T_c entre las posiciones de asoleamiento predominantes (“sumergida” y “semisumergida horizontal”) no arrojó diferencias significativas (Tabla 66), por lo que tener expuesto parte del caparazón fuera del agua no generaría un aumento de la temperatura respecto de tener el cuerpo totalmente sumergido (profundidad promedio= 6,7 cm).

Tabla 66. Valores de media (desvío estándar), mínimo y máximo de la temperatura corporal (T_c) de *H. tectifera* según posición de asoleamiento, y coeficiente y significancia del Test de t.

		Sumergida (n= 45)	Semisumergida (n=9)	Test t	p
T_c (°C)	Media (DE)	20,8 (4,73)	20,2 (3,6)	t= -0,34	0,73
	Min-Máx	11,5-27,7	15,05-25,7		

Las temperaturas medias registradas en el ambiente y en las tortugas fueron similares entre sí. El promedio de la Tc para la muestra total fue igual a 20,3°C (Tabla 67), mientras que el promedio de la Tagua fue 21,3°C (mín.= 10,5°C; máx.= 28,5°C) y el de la Taire fue 22,6 °C (mín.= 8,6°C; máx.= 31,1°C).

Tabla 67. Valores de media (Mín-Máx) de la longitud recta del caparazón (LRC), peso (P) y temperatura corporal (Tc) de la muestra total de tortugas *H. tectifera* registradas asoleándose.

*n=15, ya que en 12 juveniles muy pequeños no se logró tomar las temperaturas cloacal y/o bucal debido a la relación de tamaño entre el diámetro del termómetro y los orificios de la boca y cloaca de dichos ejemplares.

	Machos (n=18)	Hembras (n=24)	Juveniles (n= 27)	Total (n=69)
LRC (mm)	1174 (414-1702)	217,7 (128-265,5)	89,2 (49,5-133)	171 (49,5-265,5)
P (gr)	228,2 (156-265,5)	1355,5 (345-1912)	109,8 (18-274)	784,2 (18-1912)
Tc (°C)	18,96 (11,5-26,4)	19,8 (10,6-27,7)	23 (12,6-27,2)*	20,3 (10,6-27,7)

El análisis de correlación entre las posibles variables explicativas de la Tc determinó gran correlación entre el par Tagua-Taire ($r= 0,88$) y el par LRC-P ($r= 0,95$), por lo que se excluyeron las variables Taire y P del análisis de regresión lineal múltiple subsiguiente, y los datos correspondientes a las tortugas que fueron encontradas fuera del agua ($n= 3$) por no contar con los respectivos valores de Tagua.

La regresión lineal múltiple entre Tc con Tagua, profundidad y LRC arrojó que la única variable capaz de predecir la Tc de los individuos es la Tagua ($N= 55$, $R^2= 0,95$; Tabla 68). Al excluir el resto de las variables regresoras, la regresión lineal simple entre Tc y Tagua arrojó igual resultado: $R^2= 0,95$; $p < 0,0001$; la fórmula obtenida fue: $Tc= 1,56 + 0,91 \text{ Tagua}$ (Fig. 82). La relación dependiente de Tc respecto de la Tagua se mantuvo durante todas las estaciones del año (Fig. 83).

Tabla 68. Valores de pendiente (β) y significancia (p) para cada variable de la regresión lineal múltiple. Los valores de p significativos se indican en negrita.

Variable	β	p
Tagua	0,94	< 0,001
LRC	0,004	0,13
Profundidad	0,004	0,12

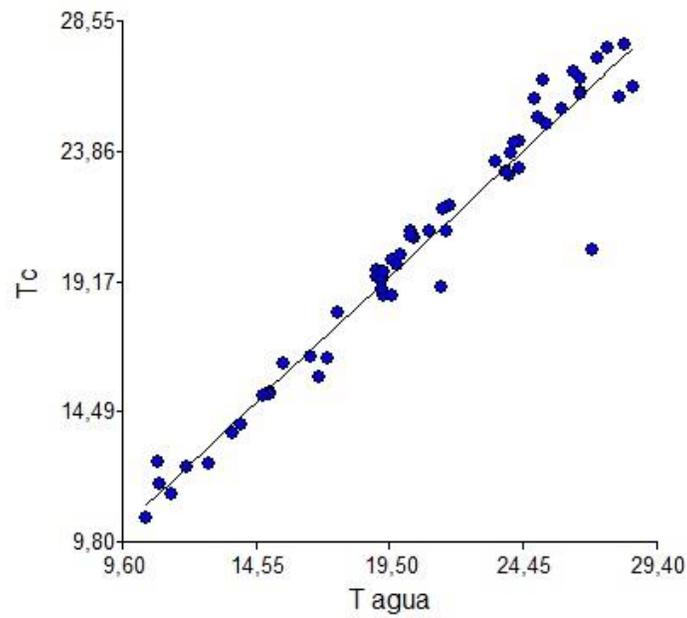


Figura 82. Relación entre las temperaturas del agua (T_{agua}) y corporal (T_c) de las tortugas *H. tectifera* en conducta de asoleamiento.

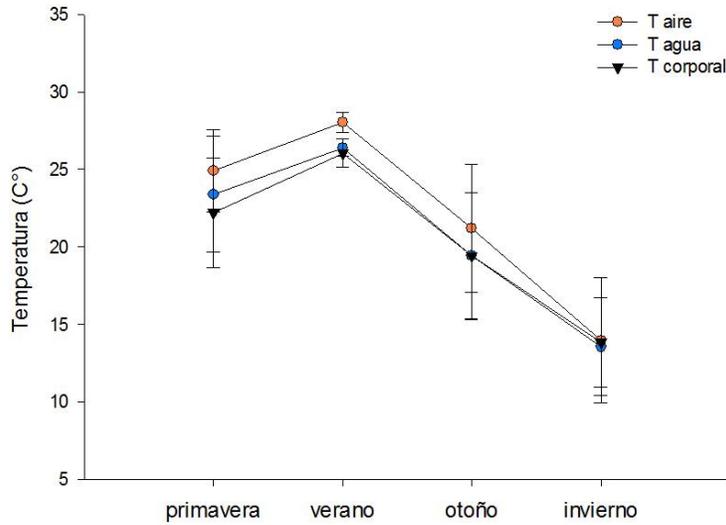


Figura 83. Variación estacional de las temperaturas ambientales (T_{aire} y T_{agua}) y de las tortugas (T_{corporal}). Símbolos= media, barras= desvío estándar.

4.5. Discusión

En el presente capítulo se propuso estudiar el asoleamiento que practica la especie *H. tectifera* que, según la literatura sobre la base de observaciones aisladas y de ejemplares en condiciones no naturales, sería de tipo subacuático. A través de los sucesivos muestreos se observó, de acuerdo con lo que se esperaba, que las tortugas de esta especie prácticamente no salen del agua para asolearse y que el asoleamiento lo realizan parcial o totalmente sumergidas, siempre en contacto con el lecho del cauce (nunca en flotación). En efecto, la mayoría de los individuos observados en asoleamiento (77%) se encontraban completamente sumergidos mientras que casi todo el porcentaje restante estaba en sitios someros y con solo una parte del espaldar expuesta fuera del agua. Una conducta de asoleamiento muy similar a esta última, descrita como intermedia entre los modos aéreo y acuático, ocurre en el chélido australiano *Emydura macquarii* (Chessman 1987). Lo observado por ese autor para *E. macquarii* coincide con lo visto aquí para *H. tectifera*, dado que las tortugas se encontraban en sitios someros y presentaban las extremidades y cuello extendidos (como en el asoleamiento aéreo típico) o retraídos dentro del caparazón. Asimismo, la temperatura corporal de los individuos de *E. macquarii* fue muy similar entre los tres tipos de

asoleamiento, coincidentemente con lo que se obtuvo en la presente tesis, en la que no hubo diferencias significativas en la T_c entre las posiciones sumergida y semisumergida (Tabla 66). Por tanto, el hecho de tener parte del cuerpo fuera del agua no generaría un aumento en la temperatura del cuerpo general, respecto de estar enteramente dentro del agua.

Por otro lado, la posición de asoleamiento descrita en el presente estudio como “semisumergida vertical” se asimila de cierta manera con el asoleamiento acuático que se describe para otras especies de tortugas dulceacuícolas (Moll y Legler 1971, Chessman 1987, Richard 1999), con la diferencia que en este último las tortugas se encuentran en posición horizontal en lugar de vertical. Si bien la postura “semisumergida vertical” fue registrada con certeza una única vez, probablemente, tal como se mencionó previamente, algunas de las tortugas que se observaron en el sol quietas con el cuello fuera del agua y que no pudieron capturarse, estaban realizando asoleamiento en esta posición. Además, esta variante ya había sido detectada en otras oportunidades durante el trabajo de campo relativo a los restantes objetivos de la presente tesis. Por el momento no es posible saber si esta modalidad es poco frecuente o si simplemente es la que les permite a las tortugas estar en total alerta mientras se asolean, para de esta manera percibir los movimientos del entorno (en este caso los observadores) y escapar antes de poder ser detectadas. Evidentemente, es probable que esta no sea la postura de asoleamiento que predomina en la especie, pero seguramente su frecuencia sea mayor que la detectada en este trabajo.

Existe una serie de consideraciones que deben hacerse respecto del pequeño porcentaje de individuos (4,3%, $n=3$) que se registraron posados fuera del agua, a unos pocos cm de ella en los márgenes del arroyo a pocos centímetros del agua. Una de esas tortugas era una hembra que mostraba signos de mal estado de salud, que no se movía ni respondía a estímulos externos. También presentaba numerosas cicatrices en el caparazón que, por su forma circular, podían representar úlceras ya curadas. Su temperatura corporal estaba $1,4^{\circ}\text{C}$ por encima de la T_{agua} y $2,4^{\circ}\text{C}$ menos que la T_{aire} . Ésta se sumó a los otros tres casos de tortugas enfermas que se encontraron fuera del agua y expuestas al sol en el marco de otros muestreos relativos a otros capítulos de esta tesis (4 en total). Tal como fuera

descrito en el Capítulo 2, todas estas tortugas (junto con un quinto individuo ulcerado e inactivo pero que estaba dentro del agua) fueron capturadas y mantenidas en cautiverio en estanques al aire libre, hasta su deceso en término de días a semanas. Los estanques tenían una profundidad de 0,5m y contaron con plataformas para asoleamiento aéreo, así como vegetación acuática y alimento natural. Durante el tiempo en que estuvieron cautivas, casi todas ellas salieron totalmente del agua en algún momento y se asolearon sobre las plataformas disponibles, accediendo al secado completo de su superficie corporal (Fig. 84). La única que no salió por completo del agua fue la que se capturó durante el presente estudio, aunque sí se la pudo ver practicando una suerte de asoleamiento acuático, con el cuerpo bajo la superficie del agua, presumiblemente por tener dificultades en controlar su flotabilidad. Diversos estudios verifican la estrecha relación entre asoleamiento atmosférico y mal estado sanitario, incluso en especies que usualmente no se asolean fuera del agua o que practican ambas modalidades de asoleo. Chessman (1987) observó una alta incidencia de úlceras, lesiones en el caparazón e infecciones oculares en las tortugas de *E. macquarii* que asoleaban fuera del agua, comparado con las que no asoleaban. De igual modo, el asoleamiento aéreo en *Sternotherus depressus* no es tan común en tortugas sanas y es practicado con mayor frecuencia por tortugas enfermas (Dodd 1988). Este autor concluye que, en esta especie, la conducta de asoleamiento está asociada a colaborar con las funciones del sistema inmune frente a infecciones bacterianas. En un estudio más reciente, se encontró que los machos de *Mauremys leprosa* que padecen infecciones parasitarias pasan más tiempo asoleándose que aquellos no infectados, por lo que el estado de salud sería el que regula la frecuencia de asoleo (Ibáñez et al. 2014). A su vez, esta correspondencia asoleamiento-enfermedad ha sido constatada también para la especie marina *Chelonia mydas* que cuenta con una alta prevalencia de fibropapilomatosis y en la cual la conducta de asoleamiento es muy poco frecuente, al igual que para el resto de las tortugas marinas (Swimmer 2006). En ese estudio, solo las tortugas que padecían la enfermedad se asolearon y lograron elevar su temperatura corporal. Por lo tanto, según lo observado en la presente tesis y en concordancia con lo constatado para otras especies, las tortugas *H. tectifera* salen ocasionalmente del agua mientras están cursando alguna enfermedad, probablemente para lograr un aumento

en su temperatura corporal y colaborar con el sistema inmune. A su vez, en individuos que padecen enfermedad ulcerativa del caparazón (como la mayoría de las tortugas que se registraron asoleándose fuera del agua), el secado del mismo producto de la exposición al sol podría contribuir con el curado y cicatrización de las heridas. Sin embargo, esto se registró solo en los casos de ulceración grave y no así en tortugas con úlceras moderadas o leves, lo que sugiere que el recurso de asoleamiento aéreo sería empleado en estados avanzados de la enfermedad.

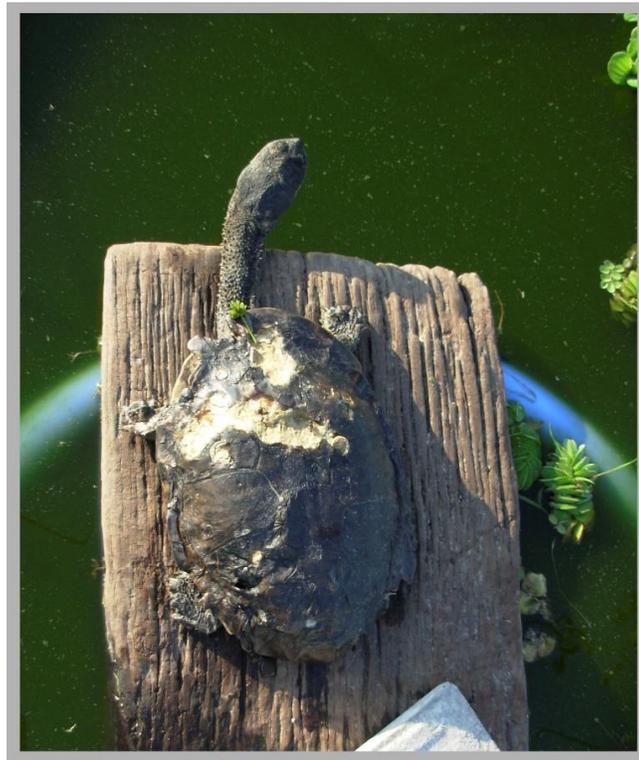


Figura 84. Individuo de *H. tectifera* con ulceración severa proveniente del sector B2 del A° Buñirigo, asoleándose en cautiverio.

En cuanto a las restantes tortugas que estaban fuera del agua, se trató de dos juveniles pequeños (LRC (mm)= 50 y 94) que estaban posados sobre la vegetación riparia, aproximadamente a medio metro el uno del otro. Los mismos estaban en buena condición sanitaria y en alerta. Tal situación resultó llamativa no solo porque el asoleamiento atmosférico en tortugas sanas de esta especie es inusual, sino además por el tamaño de los individuos. La

temperatura corporal del más grande ($T_c = 12,65^\circ\text{C}$) superó $1,75^\circ\text{C}$ la Tagua inmediata a la zona de asoleamiento y fue similar a la del aire ($T_{\text{aire}} = 13^\circ\text{C}$). El asoleamiento aéreo ha sido reportado para crías y juveniles de otras especies de tortugas dulceacuícolas, tanto en cautividad como en condiciones naturales (Janzen et al. 1992). Si bien las funcionalidades del asoleo en los juveniles serían las mismas que en los adultos, en algunas especies es común que los primeros pasen menos tiempo asoleándose que las tortugas adultas grandes (Lefevre y Brooks 1995, Selman y Qualls 2011). Las razones de ello pueden estar asociadas con el riesgo de predación que representa el ambiente terrestre para las tortugas acuáticas pequeñas. Además, los individuos pequeños experimentan un aumento de la temperatura más veloz que los de mayor tamaño (Spotila y Gates 1975), por lo que regresarían al agua en menor tiempo. Esto podría explicar por qué es menos frecuente ver crías y juveniles pequeños tomando sol fuera del agua, además que por su tamaño muchas veces resulta difícil distinguirlos. De todos modos, dado que en el presente estudio se observaron asoleando fuera del agua sólo dos de 27 juveniles, sumado a que en la bibliografía no hay registros de esta conducta para juveniles de la especie ni tampoco observaciones personales durante otros muestreos, es altamente probable que este haya sido un evento aislado y extremadamente poco frecuente. El mismo día en el que se registraron esos dos juveniles fuera del agua también se observaron otras situaciones llamativas. Por un lado, se detectó una tortuga *P. hilarii* en un sector somero del arroyo la cual tenía un comportamiento anormal ya que no abría los ojos, realizaba movimientos erráticos, ni tampoco intentó escapar mientras fue manipulada, incluso luego de ser liberada. Por otro lado, en una sección en que el arroyo cruza una calle y donde recibe un pequeño afluente que trae agua probablemente más limpia que la que corre por el cauce principal, se observó un grupo de más de 20 *H. tectifera*, tanto activas como inactivas. En base a la experiencia propia en este arroyo, no es sorprendente ver tortugas en el mencionado sector, pero sí lo es que la abundancia sea tan alta y que se encuentren expuestas y de forma gregaria. Si bien se trata de comentarios anecdóticos sin mayor relevancia, que estos eventos atípicos hayan sucedido de forma simultánea hace suponer que puedan haber sido provocados por un detonante común. Puesto que la *P. hilarii* estaba desorientada, los juveniles de *H. tectifera* buscaron

explorar zonas por fuera del cauce y que un gran grupo de tortugas de la última especie se encontraba precisamente en el sitio donde hay un ingreso de agua, es posible que hubiera alguna condición en el agua que genere que los individuos busquen salir o encontrar zonas más favorables.

Por otra parte, la comparación estacional arrojó que el número de tortugas que se asoleó durante primavera fue significativamente mayor al resto mientras que el menor número de observaciones se produjo durante el verano. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para otras especies dulceacuícolas (Coleman y Gutberlet 2008, Selman y Qualls 2011, Semeniuk y Alcalde 2017, Erdélyi et al. 2018), las cuales presentaron su máxima actividad de asoleamiento durante la primavera. En tortugas que realizan asoleamiento aéreo, dado que la temperatura del aire en primavera es superior a la del agua, salir fuera de ella resulta ventajoso por sobre permanecer sumergidas, en términos de lograr un aumento de la temperatura corporal. En cambio, en el verano la exposición fuera del agua se ve limitada por las altas temperaturas del aire, y la permanencia en el agua cálida sería suficiente para lograr temperaturas corporales altas (Grayson y Dorcas 2004). En especies que se asolean de forma subacuática, como *H. tectifera*, es probable que suceda algo semejante: la temperatura del agua que ofrecen los sectores soleados en primavera seguramente resulte beneficiosa para realizar sus actividades vitales a diferencia del verano, durante el cual aparentemente las tortugas no eligen permanecer en sectores de sol, considerando que en general el agua está más cálida, incluso en zonas de sombra o más profundas. Cabe aclarar que durante los muestreos de verano pudo avistarse varias tortugas en movimiento o apoyadas sobre el fondo a la sombra, mientras que solo tres estuvieron practicando asoleo.

Por otro lado, los resultados en cuanto a los rangos horarios en que se observaron tortugas asoleándose (principalmente entre las 11:00 y las 17:00h) sugieren que las mismas tienen cierta preferencia por los momentos del día para su exposición al sol, que a su vez guarda íntima relación con la Tagua. La variación diaria en la conducta de asoleamiento fue observada en otros estudios de tortugas dulceacuícolas (Lefevre y Brooks 1995, Selman y Qualls 2011, Erdélyi et al. 2018). Al provenir de zonas con estacionalidad marcada, durante el otoño y la primavera las tortugas parecen preferir las horas más cálidas que rondan el

mediodía para su exposición al sol, mientras que en el verano lo hacen más temprano en la mañana o hacia horas de la tarde. Muchos de los estudios que tratan esta temática en especies de agua dulce (principalmente aquellas que se asolean fuera del agua) no realizan muestreos invernales dado que es común que las tortugas hibernen o bajen significativamente su actividad. En cambio, la especie aquí estudiada, *H. tectifera*, se encuentra activa durante todo el año, tal como se pudo constatar en este y otros estudios de la especie (Lescano et al. 2008, Alcalde et al. 2021, Palumbo et al. 2021).

Respecto a la comparación entre sexos, no se obtuvieron diferencias significativas en la proporción entre machos y hembras que se estaban asoleando, ni tampoco se obtuvo relación entre sexo y estación, por lo que individuos de ambos sexos se asolearían de manera equitativa a lo largo del año. En otras especies dulceacuícolas se ha observado que, en ciertos períodos del año, el asoleamiento tiene mayor duración o es practicado más frecuentemente por uno de los sexos, presuntamente en relación con una demanda energética diferencial como puede ser la producción de huevos por parte de las hembras (Hammond et al. 1988, Krawchuk y Brooks 1998, Carrèrie et al. 2008, Coleman y Gutberlet 2008) o la búsqueda de pareja en los machos (Buhlmann y Vaughan 1991, Grayson y Dorcas 2004). Sin embargo, este no sería un patrón que se repite para todas las especies, tal como expresan los resultados obtenidos en el presente y en otros estudios (Lefevre y Brooks 1995).

Por otro lado, la gran mayoría de los juveniles se asolearon durante los meses de primavera-verano, mientras que los adultos lo hicieron de manera equitativa entre las estaciones. Tal como se mencionó párrafos más arriba es bastante común que exista diferencia en la conducta de asoleamiento entre juveniles y adultos en tortugas de agua dulce. Sin embargo, en el presente caso, el hecho de que los juveniles se hayan observado asoleándose mayormente en los meses más cálidos del año (23 de un total de 27) quizás tenga relación con una diferente actividad de los mismos a lo largo del ciclo anual, siendo mayor durante el período primavera-verano, y no con la actividad de asoleamiento en sí. Esto debido a que no se registraron individuos juveniles realizando otras actividades distintas al asoleamiento durante los muestreos de otoño-invierno (se infiere que las otras tortugas que se

observaron activas eran adultas por su tamaño), lo que sugiere que probablemente los juveniles estuvieran mayormente inactivos.

Por último, los resultados arrojaron una estrecha relación entre la T_c de los individuos que se asolearon y la T_{agua} , independientemente de la profundidad a la que estaban y de su tamaño. En los reptiles, la termorregulación se logra principalmente a través de diferentes adaptaciones en el comportamiento, como la selección de microhábitats, rangos horarios y zonas térmicamente favorables, así como diferentes posturas corporales (Smith 1979, Adolph 1990, Seebacher 1999, Blouin-Demers y Weatherhead 2002, Corkery et al. 2014). Entre ellas, el asoleamiento es probablemente la forma más difundida entre las tortugas acuáticas. Para especies que practican asoleamiento atmosférico, los individuos logran un aumento efectivo de la temperatura corporal por sobre la del agua al permanecer expuestos al sol directo (Moll y Legler 1971, Obbard y Brooks 1978, Chessman 1987, Bulté y Blouin-Demers 2010). En cambio, en aquellas tortugas que no salen del agua para asolearse, la termorregulación resulta más compleja y estaría relacionada mayormente con la elección de sitios adecuados dentro del gradiente térmico que ofrece el ambiente acuático que habitan (Dubois et al. 2008, Fitzgerald and Nelson 2011, Picard et al 2011). Esto fue observado por ejemplo en un estudio de la tortuga caimán, *Macrochelys temminckii*, la cual seleccionó microhábitats más cálidos y, a pesar de que se mostró termoconformista la mayor parte del tiempo, también logró diferencias con la temperatura ambiental durante ciertos períodos (Fitzgerald y Nelson 2011). Otras especies exclusivamente acuáticas, no logran regular su temperatura corporal mediante al asoleo y resultan ser termoconformistas con el ambiente, como se constató para la especie *Hydromedusa maximiliani* (Souza y Martins 2006). En este caso, la termoconformidad está relacionada con la poca disponibilidad de sitios soleados donde practicar asoleamiento debido a la densa cobertura boscosa del ambiente que habita esa especie y a la ausencia de zonas más cálidas dentro del cauce. Algo similar se observó en el presente estudio para *H. tectifera*, en la cual las temperaturas corporales registradas en las tortugas que practicaron asoleamiento fueron prácticamente iguales a la temperatura del agua en la que se encontraban. Estos resultados concuerdan con el estudio de biología térmica realizado previamente para la especie (Molina y Leynaud

2017), con la diferencia de que éste fue realizado en horas de la tarde-noche, durante las cuales la especie estaría más activa. Los autores concluyen que el termoconformismo de *H. tectifera* se debe a la ausencia de fuentes de calor disponibles durante sus horas de actividad. Tal como pudo observarse en el presente estudio, estas tortugas también se encuentran activas durante las horas de sol, con lo cual su rango de actividad diaria es más amplio de lo que se afirma en otros estudios (Lescano et al. 2008, Bonino et al. 2009). Aun así, la permanencia en sitios soleados no parece alcanzar para generar un aumento de la T_c respecto de la temperatura del ambiente, confirmando el termoconformismo de la especie. A su vez, al ser el A° Rodríguez un curso de con flujo continuo de agua y escasa profundidad se supone que no hay variación térmica sustancial en el agua a lo largo del cauce. Sin embargo, se pudo observar que los individuos seleccionan zonas de incidencia solar donde permanecen, por tiempo indefinido, parcial o totalmente sumergidos, teniendo en cuenta que hay disponibilidad de sitios de sol y sombra en el tramo muestreado del arroyo. Surge entonces el interrogante de cuál sería la funcionalidad del asoleamiento en la especie estudiada. Si bien el asoleamiento subacuático que practica la especie no parece incidir directamente en la termorregulación, su práctica probablemente le confiera ventajas durante la variación térmica diaria. Se requieren futuros análisis que aborden este aspecto en particular, así como la calidad térmica que presentan los ambientes que esta especie habita.

En conclusión, la tortuga *H. tectifera* practica asoleamiento subacuático, parcial o totalmente sumergida, en sitios de escasa profundidad y de modo individual y no gregario. Esta conducta no genera, en principio, un aumento de su temperatura corporal respecto de la del agua, confirmando su estrategia termoconformista. Las escasas observaciones de asoleamiento aéreo verificadas en este trabajo parecen explicarse por situaciones particulares tales como presencia de alguna patología u otra adversidad en su estado de salud, por lo que en este caso el asoleamiento tendría una funcionalidad asociada al sistema inmune.

Conclusiones generales

- La enfermedad ulcerativa del caparazón fue registrada por primera vez para la especie *H. tectifera*, habiéndose detectado desde formas leves a cuadros severos (fase septicémica) con la consecuente muerte de los individuos en la mayoría de los últimos casos.
- A pesar de que no se conoce el agente causal de la patología pudo comprobarse que su prevalencia estuvo mayormente asociada a cursos de agua contaminados (principalmente de origen urbano e industrial), sin registrarse casos de tortugas ulceradas o bien con prevalencia muy baja en las poblaciones provenientes de ambientes con bajo o casi nulo impacto.
- Los casos de ulceración severa y moderada se presentaron solo en los cursos de agua de peor calidad, mientras que los casos leves provinieron de todos los arroyos donde la enfermedad ulcerativa estuvo presente.
- Contrariamente a lo planteado en una de las hipótesis, no se obtuvo relación significativa entre presencia de úlceras y sexo, por lo que las hembras no se vieron más afectadas por la enfermedad ulcerativa del caparazón que los machos.
- La presencia de úlceras no se registró en la especie *P. hylarrii*, comprobándose de esa manera que frente a un mismo escenario ambiental negativo la patología afecta solo a *H. tectifera*.
- A pesar de que la presencia de daños no ulcerosos en el caparazón de las tortugas parece es común en ambas, particularmente la categoría “daño en queratina” auspicia como sitio propicio para la entrada de patógenos presentes en el ambiente lo que puede derivar en ulceraciones locales o de mayor extensión.
- Los tipos de lesión “falta de parte del caparazón” y “cicatriz” tienen presuntamente diferentes orígenes en ambas especies, representando secuelas de la presencia de úlceras en *H. tectifera* mientras que para *P. hylarrii* éstas estarían asociadas a mordeduras de cánidos y caídas en altura.

- El Índice de Condición Corporal (ICC) resultó cercano a cero en todas las poblaciones estudiadas y a su vez no resultó significativamente diferente entre las poblaciones provenientes de los arroyos estudiados para ninguna de las dos especies, ni entre individuos con y sin ulceraciones en el caparazón. Por tal razón, no resultó un parámetro útil para determinar diferencias en el estado sanitario de los individuos que habitan cursos con distinta calidad de agua.
- Los temnocéfalos (tanto estadio de huevo como adulto) constituyeron el grupo taxonómico de mayor importancia relativa en los ensambles de zoopibiontes sobre el caparazón de las *H. tectifera* procedentes de arroyos de llanura bonaerenses (éstos no parecen distribuir en los arroyos serranos estudiados) y el que más contribuyó a la disimilitud entre los arroyos estudiados.
- La abundancia de los temnocéfalos sobre *H. tectifera* tuvo valores sumamente mayores en los cursos de agua de mejor calidad ambiental (A° Tubichamini y sector B1 del A° Buñirigo) respecto de los de peor calidad donde estuvieron ausentes (A° Rodríguez y A° El Gato) o su abundancia fue mucho menor (sector B2 del A° Buñirigo y A° Martín), lo que probablemente se deba a la estrecha relación de estos organismos con las condiciones fisicoquímicas del agua, siendo organismos muy sensibles a la mala calidad ambiental.
- La prevalencia y cobertura de epibiontes (fracciones animal y vegetal) fue muy diferente entre las dos especies estudiadas, siendo comparativamente mayor para *H. tectifera* respecto de *P. hilarii*. En la última, la presencia de epibiontes se observó principalmente en individuos pequeños, probablemente relacionado con una conducta de asoleamiento menos frecuente en los mismos.
- Se observó una relación inversa entre cobertura de epibiontes y severidad de ulceraciones en el caparazón de *H. tectifera*, lo que hace suponer que la primera podría actuar como barrera mecánica frente a roces con elementos del ambiente (o como agente de remoción de colonias bacterianas en el caso de los temnocéfalos), sugiriendo una relación de beneficio mutuo entre las tortugas y los organismos que viven sobre ellas.

- En base a la presencia de úlceras y de temnocéfalos en el caparazón de *H. tectifera* se obtuvieron dos agrupamientos diferentes principales que mayormente coinciden con la calidad de agua de los arroyos de los que provienen los individuos: A° Tubichamini y sector B1 del Buñirigo (bajo impacto) y A° Rodríguez, El Gato y sector B2 del Buñirigo (alto impacto). El A° Carnaval ocupó una posición intermedia (coincidente con su nivel de impacto medio) y los individuos del A° Martín estuvieron presentes en los tres agrupamientos.
- No se obtuvieron desviaciones en la proporción de sexos respecto de la proporción esperada 1:1 para la mayoría de las poblaciones estudiadas de ambas especies, a excepción de las correspondientes de los A° Martín, Tubichamini y sector B2 del Buñirigo de *H. tectifera* y las *P. hilarii* de los A° El Gato y Tubichamini, las que estuvieron desviadas a favor de los machos, y las *H. tectifera* del A° Sauce Grande cuya desviación fue hacia las hembras. Las causas de tales desviaciones deben ser analizadas en sus contextos particulares y es probable que se deban a un conjunto de variables específicas y ambientales y no solo a un único factor dominante.
- El recuento total de eritrocitos (RTE) de las *H. tectifera* del A° El Gato, que resultó significativamente menor al resto, sugiere un peor estado sanitario de estas tortugas respecto de las de la misma especie de otros arroyos y de las de *P. hilarii* que cohabitan el mismo ambiente. Si bien con los estudios realizados no es posible conocer el origen de la anemia encontrada en esa población, la misma puede deberse a una deficiencia nutricional pudiendo o no estar relacionada con la baja calidad del agua del mencionado arroyo.
- Los resultados de las comparaciones entre poblaciones de ambas especies en base al perfil leucocitario y al índice de stress H/L no arrojaron agrupaciones contrastantes claras de acuerdo a las distintas calidades del agua de los arroyos estudiados.
- En contra de lo que se esperaba, no se obtuvieron diferencias significativas entre tortugas con y sin úlceras en el caparazón para ninguna de las variables hematológicas evaluadas, por lo que sería conveniente ajustar la selección de individuos a los que tomarles muestras sanguíneas priorizando aquellos que estén cursando

etapas avanzadas de la enfermedad en los que tal vez sea más probable que se encuentren alteraciones hematológicas.

- En base a los resultados obtenidos para individuos aparentemente sanos provenientes de cursos de agua con muy bajo disturbio antrópico de ambas especies se establecieron parámetros hematológicos de referencia posibles de ser utilizados para futuras comparaciones con otras poblaciones.
- Se comprobó que las tortugas de la especie *H. tectifera* no salen del agua para practicar asoleamiento, y lo hacen de manera subacuática, mayormente con el cuerpo completamente sumergido y en ocasiones con el espaldar o parte de él expuesto sobre la superficie del agua, siempre apoyadas sobre el fondo del cauce y en sectores poco profundos.
- Se registraron unos pocos casos de individuos adultos fuera del agua practicando asoleamiento aéreo que coincidentemente tenían mal estado sanitario, lo que sugiere que tal comportamiento tendría una funcionalidad sobre el sistema inmune.
- Habiéndose comprobado el tipo de asoleamiento subacuático que practica *H. tectifera*, y a partir del registro de la enfermedad ulcerativa del caparazón en muchas de sus poblaciones junto con la alta cobertura de epibiontes vegetal y animal para la mayoría de ellas, puede decirse que el hecho de no salir del agua, y consecuentemente no tener acceso a un secado completo del cuerpo, representaría el factor que la desfavorece respecto de *P. hilarii*, la cual cohabita los mismos cursos de agua pero no se ve afectada por la mencionada patología ni experimenta grandes coberturas de epibiontes, seguramente asociado a su conducta de asoleamiento atmosférico.
- A partir de toda la información obtenida en base a las dos especies de tortugas estudiadas en el presente trabajo de tesis se concluye que *H. tectifera* puede ser empleada como bioindicadora de la calidad del agua para los arroyos pampásicos de llanura de la provincia de Buenos Aires donde se distribuye la especie, descartando a *P. hilarii* para tal fin. Las variables que resultaron clave para determinar la condición sanitaria de los individuos, y de esa manera inferir la calidad del agua del

ambiente que habitan fueron (1) la prevalencia y severidad de úlceras y (2) la prevalencia y abundancia de temnocéfalos sobre el caparazón de las tortugas. El ICC, la proporción de sexos y los parámetros hematológicos empleados deben descartarse por no arrojar resultados contrastantes contundentes.

- En tal sentido, para futuros estudios que busquen determinar tendencias en la calidad del agua que habita la especie *H. tectifera* se propone: 1) capturar en lo posible al menos 20 individuos de la especie en sitio de interés, 2) emplear porcentaje de cobertura de los temnocéfalos (huevos y adultos) en lugar de abundancia (como se utilizó en el presente estudio), aprovechando la masa continua y compacta que forman estos organismos sobre el caparazón de las tortugas, lo cual resultaría más práctico de calcular e igualmente informativo, 3) en caso de detectar úlceras en el caparazón, calcular su extensión y severidad empleando el método del Puntaje Total de la Enfermedad del Caparazón (PTEC), clasificando luego su nivel de ulceración según el Índice de Ulceración del Caparazón (IUC), 4) en base a la combinación de resultados obtenidos, considerar la ausencia o muy baja abundancia de temnocéfalos junto con la presencia de úlceras severas o moderadas en el caparazón como indicadores de mala calidad del agua, y en contraposición, una abundancia alta de temnocéfalos junto con la ausencia de úlceras, o bien una severidad leve en las mismas, como indicadores de buena calidad.

Índice de Tablas

Tabla 1. Usos de suelo, nivel de perturbación y parámetros fisicoquímicos medidos en los arroyos del área de estudio	45
Tabla 2. Técnicas de muestreo, número de muestreos y correspondiente esfuerzo para cada tramo muestreado en cada arroyo.....	59
Tabla 3. Frecuencias observadas de <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval según sexo y categoría de IUC.....	72
Tabla 4. Frecuencias observadas de <i>H. tectifera</i> del A° Martín según sexo y categoría de IUC.....	73
Tabla 5. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.....	74
Tabla 6. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Martín calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.....	75
Tabla 7. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas de <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval discriminada por sexo.....	76
Tabla 8. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas de <i>H. tectifera</i> del A° Martín discriminada por sexo.....	77
Tabla 9. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval.....	78
Tabla 10. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Martín.....	79
Tabla 11. Frecuencias observadas de <i>H. tectifera</i> del A° Rodríguez según sexo y categoría de IUC.....	81
Tabla 12. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del A° Rodríguez calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.....	82

Tabla 13. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del A° Rodríguez discriminada por sexo y especie.....	84
Tabla 14. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Rodríguez.....	85
Tabla 15. Frecuencias observadas de <i>H. tectifera</i> del A° El Gato según sexo y categoría de IUC.....	87
Tabla 16. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del A° El Gato calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.....	88
Tabla 17. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del A° El Gato discriminada por sexo y especie.....	90
Tabla 18. Frecuencias observadas de <i>H. tectifera</i> del A° Tubichamini según sexo y categoría de IUC.....	93
Tabla 19. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del A° Tubichamini calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.....	94
Tabla 20. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del A° Tubichamini discriminada por sexo y especie.....	96
Tabla 21. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Tubichamini.....	97
Tabla 22. Frecuencias observadas de <i>H. tectifera</i> de la sección B1 del A° Buñirigo según sexo y categoría de IUC.....	99
Tabla 23. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del sector B1 del A° Buñirigo calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón.....	100

Tabla 24. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del sector B1 del A° Buñirigo discriminada por sexo y especie..... 103

Tabla 25. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del sector B1 del A° Buñirigo..... 104

Tabla 26. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados de IIR para el ensamble del zoopibiontes del caparazón de *P. hilarii* del sector B1 del A° Buñirigo..... 105

Tabla 27. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del sector B2 del A° Buñirigo según sexo y categoría de IUC..... 106

Tabla 28. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón en ambas especies de tortuga del sector B2 del A° Buñirigo calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón..... 107

Tabla 29. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de tortugas del sector B2 del A° Buñirigo discriminada por sexo y especie..... 109

Tabla 30. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual y resultados del IIR para el ensamble de zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del sector B2 del A° Buñirigo..... 111

Tabla 31. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón..... 112

Tabla 32. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de *H. tectifera* del A° Sauce Grande discriminada por sexo..... 113

Tabla 33. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble de zoopibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande..... 114

Tabla 34. Frecuencias observadas de *H. tectifera* del A° Tanti según sexo y categoría de IUC..... 115

Tabla 35. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Tanti calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón..... 116

Tabla 36. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de *H. tectifera* del A° Tanti discriminada por sexo..... 117

Tabla 37. Abundancia porcentual (N), frecuencia de ocurrencia porcentual (F), volumen porcentual (V) y resultados del IIR para el ensamble de zooepibiontes del caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande..... 118

Tabla 38. Valores del Índice de Importancia Relativa (IIR) de cada tipo de lesión del caparazón de *H. tectifera* del A° Toro Muerto calculado para el área dorsal, ventral y total del caparazón..... 119

Tabla 39. Media, desvío estándar (DE), máximo y mínimo de la longitud recta del caparazón (LRC, en mm), peso (P, en g) e Índice de Condición Corporal (ICC) para la muestra total de *H. tectifera* del A° Toro Muerto discriminada por sexo..... 120

Tabla 40. Coeficientes (H) de los análisis de varianza no paramétrica Kruskal-Wallis y significancia de las comparaciones entre arroyos por tipo de lesión para *H. tectifera*..... 125

Tabla 41. Lista de grupos taxonómicos presentes en los ensambles de zooepibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* según arroyo..... 129

Tabla 42. Valores de ANOSIM para abundancia de los ensambles de zooepibiontes del caparazón de *H. tectifera* global y por pares de arroyos..... 130

Tabla 43. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Tubichamini y Sauce Grande..... 131

Tabla 44. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre el sector B1 del A° Buñirigo y Sauce Grande..... 131

Tabla 45. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Rodríguez y Tubichamini..... 131

Tabla 46. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de *H. tectifera* entre los arroyos Rodríguez y el sector B1 del Buñirigo..... 132

Tabla 47. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de <i>H. tectifera</i> entre los arroyos Tubichamini y Tanti.....	132
Tabla 48. Valores promedio, contribución porcentual y contribución porcentual acumulada de la disimilitud de la abundancia para cada grupo taxonómico de epibiontes sobre el caparazón de <i>H. tectifera</i> entre los arroyos El Gato y Tubichamini.....	132
Tabla 49. Número de machos y hembras, proporción de sexos y significancia de los test χ^2 de las poblaciones de <i>H. tectifera</i> por arroyo.....	133
Tabla 50. Coeficientes de los test Kruskal-Wallis (H) y significancia para las comparaciones entre arroyos por tipo de lesión para la especie <i>P. hiliarii</i>	134
Tabla 51. Número de machos y hembras, proporción de sexos y significancia de los test χ^2 para las poblaciones de <i>P. hiliarii</i> por arroyo.....	137
Tabla 52. Significancia para los test Mann-Whitney U entre especies por tipo de lesión y curso de agua.....	138
Tabla 53. Resultados más relevantes de los índices calculados para ambas especies por arroyo.....	141
Tabla 54. Recuentos totales de eritrocitos (RTE; $10^5/\mu\text{l}$) y leucocitos (RTL; $10^3/\mu\text{l}$) en <i>H. tectifera</i> por arroyo.....	170
Tabla 55. Media (\pm DE) de los porcentajes de cada tipo celular y relación H/L del perfil leucocitario de <i>H. tectifera</i> por arroyo.....	172
Tabla 56. Coeficientes de ANOVA (F) o Kruskal-Wallis (H) y significancia de las comparaciones entre arroyos por tipo leucocitario porcentual y relación H/L, de <i>H. tectifera</i>	173
Tabla 57. Coeficientes de los test no paramétricos Mann-Whitney (W) y significancia de las comparaciones entre tortugas con y sin úlceras de los recuentos celulares totales, tipos leucocitarios porcentuales y relación H/L, de <i>H. tectifera</i> según arroyo.....	174
Tabla 58. Coeficientes de los test paramétrico (t) y no paramétrico Mann-Whitney U (W) y significancia de la comparación global entre tortugas con y sin úlceras de <i>H. tectifera</i> de los recuentos celulares totales, tipos leucocitarios porcentuales y relación H/L.....	175
Tabla 59. Recuentos totales de eritrocitos (RTE; $10^5/\mu\text{l}$) y leucocitos (RTL; $10^3/\mu\text{l}$) en <i>P. hiliarii</i> , según arroyo.....	176
Tabla 60. Valores medios (\pm DE) de los porcentajes de cada tipo celular y relación H/L del perfil leucocitario de <i>P. hiliarii</i> por arroyo.....	177

Tabla 61. Coeficientes de los análisis de la varianza y significancia para las comparaciones entre arroyos del perfil leucocitario y relación H/L de <i>P. hylarii</i>	177
Tabla 62. Coeficientes de t- test (t) y Mann-Whitney U (W) y significancia para las comparaciones entre especies de los recuentos celulares totales, perfil leucocitario y relación H/L por arroyo.....	179
Tabla 63. Valores de referencia promedio (\pm DE), mínimos y máximos de los Recuentos Totales de Eritrocitos (RTE; $10^5/\mu\text{l}$) y Leucocitos (RTL; $10^3/\mu\text{l}$) y de los porcentajes de cada tipo celular y relación H/L del perfil leucocitario, para ambas especies.....	180
Tabla 64. Numero de tortugas asoleándose según estación del año y sexo.....	200
Tabla 65. Numero de tortugas asoleándose según estación del año y edad.....	200
Tabla 66. Valores de media (desvío estándar), mínimo y máximo de la temperatura corporal (Tc) de <i>H. tectifera</i> según posición de asoleamiento, y coeficiente y significancia del Test de t.....	202
Tabla 67. Valores de media (Mín-Máx) de la longitud recta del caparazón (LRC), peso (P) y temperatura corporal (Tc) de la muestra total de tortugas <i>H. tectifera</i> registradas asoleándose.....	203
Tabla 68. Valores de pendiente (β) y significancia (p) para cada variable de la regresión lineal múltiple.....	204

Índice de Figuras

Figura 1. Tortuga cuello de serpiente, <i>Hydromedusa tectifera</i>	15
Figura 2. Tortuga de laguna, <i>Phrynops hilarii</i>	16
Figura 3. Lesiones cutáneas ulcerativas en el plastrón de <i>Trachemys callirostris</i>	18
Figura 4. Vista ventral de hembra de <i>H. tectifera</i> con ulceraciones crateriformes en el plastrón.....	22
Figura 5. Ubicación geográfica del área de estudio en la provincia de Buenos Aires.....	24
Figura 6. Ubicación geográfica del área de estudio en la provincia de Córdoba.....	25
Figura 7. Arroyos Carnaval y Martín.....	31
Figura 8. Arroyos Rodríguez y El Gato.....	34
Figura 9. Arroyos Tubichamini y Buñirigo.....	39
Figura 10. Arroyos Sauce Grande, Tanti y Toro Muerto.....	43
Figura 11. Ubicación de los sitios de muestreo en los arroyos tributarios del Río de la Plata.....	47
Figura 12. Ubicación del área de muestreo en el A° Sauce Grande.....	48
Figura 13. Ubicación del área de muestreo en los arroyos serranos.....	48
Figura 14. Técnicas de muestreo.....	58
Figura 15. Metodología en campo.....	61
Figura 16. Tipos de úlceras según severidad.....	63
Figura 17. Tipos de lesiones no ulcerosas en el caparazón.....	66
Figura 18. Cobertura de epibiontes.....	67
Figura 19. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval.....	71
Figura 20. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie <i>H. tectifera</i> del A° Martín.....	72
Figura 21. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval por tipo de lesión.....	73
Figura 22. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de <i>H. tectifera</i> del A° Martín por tipo de lesión.....	74
Figura 23. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de <i>H. tectifera</i> del A° Carnaval.....	75

Figura 24. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Martín..... 77

Figura 25. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Rodríguez..... 80

Figura 26. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del A° Rodríguez por tipo de lesión..... 81

Figura 27. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Rodríguez..... 83

Figura 28. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del A° Rodríguez..... 84

Figura 29. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° El Gato..... 87

Figura 30. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del A° El Gato por tipo de lesión..... 88

Figura 31. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° El Gato..... 89

Figura 32. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del A° El Gato..... 90

Figura 33. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Tubichamini..... 92

Figura 34. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del A° Tubichamini por tipo de lesión..... 94

Figura 35. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Tubichamini..... 95

Figura 36. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del A° Tubichamini..... 96

Figura 37. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del sector B1 del A° Buñirigo..... 99

Figura 38. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies de la sección B1 del A° Buñirigo por tipo de lesión..... 100

Figura 39. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del sector B1 del A° Buñirigo..... 102

Figura 40. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del sector B1 del A° Buñirigo..... 102

Figura 41. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* de la sección B2 del A° Buñirigo..... 106

Figura 42. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de ambas especies del sector B2 del A° Buñirigo por tipo de lesión..... 107

Figura 43. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del sector B2 del A° Buñirigo..... 108

Figura 44. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *P. hilarii* del sector B2 del A° Buñirigo..... 109

Figura 45. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Sauce Grande por tipo de lesión..... 112

Figura 46. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Sauce Grande..... 113

Figura 47. Porcentajes obtenidos para las categorías del IUC para la especie *H. tectifera* del A° Tanti..... 115

Figura 48. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Tanti por tipo de lesión..... 116

Figura 49. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Tanti..... 117

Figura 50. Porcentaje de individuos con lesiones en el caparazón de *H. tectifera* del A° Toro Muerto por tipo de lesión..... 119

Figura 51. Relación entre el peso y la Longitud Recta del Caparazón (LRC) de *H. tectifera* del A° Toro Muerto..... 120

Figura 52. Proporción de individuos de *H. tectifera* con úlceras en el caparazón por arroyo..... 122

Figura 53. Proporción de individuos de *H. tectifera* con ulceraciones en el caparazón según categoría de IUC por arroyo..... 123

Figura 54. Valores medios del porcentaje del caparazón total ocupado por cada tipo de lesión del caparazón para *H. tectifera* según arroyo..... 125

Figura 55. Proporción de individuos de *H. tectifera* con algas sobre el espaldar según arroyo..... 127

Figura 56. Proporción de individuos de *H. tectifera* con algas sobre el espaldar según categoría de cobertura algal por arroyo..... 127

Figura 57. Valores medios de la cobertura de algas en el espaldar de *H. tectifera* según arroyo..... 128

Figura 58. Proporción de individuos de *H. tectifera* con zooepibiontes según arroyo..... 129

Figura 59. Valores medios del porcentaje del caparazón total ocupado por cada tipo de lesión del caparazón de *P. hilarii*, según arroyo..... 134

Figura 60. Proporción de *P. hilarii* con algas sobre el caparazón según arroyo..... 136

Figura 61. Proporción de individuos de *P. hilarii* con algas sobre el caparazón según categoría de cobertura de algas por arroyo..... 136

Figura 62. Proporción de individuos con algas sobre el caparazón según arroyo y especie..... 139

Figura 63. Proporción de individuos con zooepibiontes sobre el caparazón según arroyo y especie..... 140

Figura 64. Ordenamiento en dos dimensiones de la similitud de las *H. tectifera* de los arroyos estudiados en base a la presencia de úlceras y temnocéfalos..... 141

Figura 65. Extracción de sangre de la vena yugular en un individuo adulto de *H. tectifera*..... 164

Figura 66. Metodología de laboratorio para procesamiento de las muestras de sangre..... 166

Figura 67. Tipos celulares observados en *H. tectifera*168

Figura 68. Tipos celulares observados en *P. hilarii* 168

Figura 69. Media (\pm DE) de los recuentos celulares totales para las poblaciones de *H. tectifera*..... 171

Figura 70. Media (\pm DE) de las variables hematológicas que resultaron significativamente diferentes entre las poblaciones de *H. tectifera*..... 173

Figura 71. Media (\pm DE) de las variables hematológicas que resultaron significativamente diferentes entre las poblaciones de *P. hilarii*..... 178

Figura 72. Asoleamiento aéreo en *P. hilarii*, A° Buñirigo (Magdalena, Pcia. de Bs. As.)..... 190

Figura 73. Tramo medio del A° Rodríguez (Partido de La Plata)..... 192

Figura 74. Vista aérea del tramo muestreado del A° Rodríguez..... 193

Figura 75. Resumen de la metodología realizada en campo..... 195

Figura 76. Número de tortugas *H. tectifera* avistadas realizando actividades distintas al asoleamiento..... 196

Figura 77. Posturas de asoleamiento observados en *H. tectifera*198

Figura 78. Porcentaje de tortugas *H. tectifera* observadas asoleándose según posición.....199

Figura 79. Número de tortugas *H. tectifera* asoleándose por estación del año, según posición..... 200

Figura 80. Número de tortugas (N) asoleándose por hora y correspondientes temperaturas de aire (Taire) y agua (Tagua)..... 201

Figura 81. Número de tortugas *H. tectifera* observadas asoleándose por hora según estación del año..... 202

Figura 82. Relación entre las temperaturas del agua (Tagua) y corporal (Tc) de las tortugas *H. tectifera* en conducta de asoleamiento..... 204

Figura 83. Variación estacional de las temperaturas ambientales (Taire y Tagua) y de las tortugas (T corporal)..... 205

Figura 84. Individuo de *H. tectifera* con ulceración severa proveniente del sector B2 del A° Buñirigo, asoleándose en cautiverio..... 208

Literatura citada

- Adnyana, W., Ladds, P. W. y Blair, D. (1997). Observations of fibropapillomatosis in green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. *Australian Veterinary Journal*, 75(10), 737-742.
- Adolph, S. C. (1990). Influence of behavioral thermoregulation on microhabitat use by two *Sceloporus* lizards. *Ecology*, 71(1), 315-327.
- Aduriz, M. A., Gargano, A. O., Chimeno, P., Saldungaray, M. C. y Conti, V. P. (2003). Caracterización de los agrosistemas predominantes de la cuenca alta del Río Sauce Grande. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 32(3), 3-25.
- Aguirre, A. A. y Lutz, P. L. (2004). Marine turtles as sentinels of ecosystem health: is fibropapillomatosis an indicator? *EcoHealth*, 1(3), 275-283.
- Akgul, R., Caprazli, T., Türker, N., Erduğan, H. y Tosunoğlu, M. (2014). Epizoic algae on *Emys orbicularis* (LINNAEUS, 1758), and *Mauremys rivulata* (VALENCIENNES, 1833), in the Kayak River Delta (Saros Bay, Turkey) (Testudines: Emydidae, Geoemydidae). *Herpetozoa*, 27, 21-28.
- Alcalde, L., Derocco, N. N. y Rosset, S. D. (2010). Feeding in syntopy: diet of *Hydromedusa tectifera* and *Phrynops hilarii* (Chelidae). *Chelonian Conservation and Biology*, 9(1), 33-44.
- Alcalde, L., Derocco, N. N., Rosset, S. D. y Williams, J. D. (2012). Southernmost localities of *Trachemys dorbigni* and first record of *Trachemys scripta elegans* for Argentina (Cryptodira: Emydidae). *Chelonian Conservation and Biology*, 11(1), 128-133.
- Alcalde, L., Sánchez, R. M., y Pritchard, P. C. H. (2021). *Hydromedusa tectifera* Cope 1870 – South American Snake-necked Turtle, Argentine Snake-necked Turtle, Tortuga Cuello de Vibora, Cágado Pescoço de Cobra. En A. Rhodin, J. Iverson, P. van Dijk, C. Stanford, E. Goode, K. Buhlmann y R. Mittermeier (Eds.), *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. Chelonian Research Monographs* (Vol. 5, pp. 113.1-17). Chelonian Research Foundation and Turtle Conservancy.

- Aleksić-Kovačević, S., Oezvegy, J., Krstić, N., Rusvai, M., Jakab, C., Stanimirović, Z. y Becskei, Z. (2014). Skin and skeletal system lesions of european pond turtles (*Emys orbicularis*) from natural habitats. *Acta Veterinaria Hungarica*, 62(2), 180-193.
- Alvarez, M. F., Benítez, H. H., de Souza, J. R. G., Bauer, D. E., Tarda, S., Nicolosi Gelis, M. M., Díaz, A., Saparrat, M. C. N. y Gómez, N. (2020). Los microorganismos que habitan los bañados de desborde fluvial como indicadores de los efectos de la urbanización y la actividad agropecuaria. *Biología Acuática*, 35.
- Andreani, G., Carpene, E., Cannavacciuolo, A., Di Girolamo, N., Ferlizza, E. y Isani, G. (2014). Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni ssp.*). *Veterinary Clinical Pathology*, 43(4), 573-583.
- Arcila, V. H., Navarro, R., Real, W., Rincón, M. y Villamizar, M. (2005). Hematología y química sérica en hembras quelonios (*Trachemys scripta callirostris*) en la ribera del río Lebrija, Puerto Wilches (Santander). *Spei Domus*, 1, 35-43.
- Aresco, M. J. (2005). The effect of sex-specific terrestrial movements and roads on the sex ratio of freshwater turtles. *Biological Conservation*, 123(1), 37-44.
- Arikan, H. y Çiçek, K. (2014). Haematology of amphibians and reptiles: a review. *North-western Journal of Zoology*, 10(1), 190-209.
- Assmann, B. R., Silva, J. E. A. y Marinho, J. R. (2013). Análise da dieta alimentar de tartarugas-de-água-doce da família Chelidae em lagos rasos costeiros em Rio Grande, RS. *Vivências*, 9(16), 36-52.
- Astort, E. D. (1983). Observaciones sobre el comportamiento estacional de *Hydromedusa tectifera* Cope, *Phrynops hilarii* (Dum. & Bib.) y *Acanthochelys spixii* Dum. & Bib. en cautiverio (Testudines–Chelidae). *Boletín de la Asociación Herpetológica Argentina*, 1(3), 8.
- Auth, D. L. (1975). Behavioral ecology of basking in the yellow-bellied turtle, *Chrysemys scripta scripta* (Schoepff). *Bulletin of the Florida State Museum Biological Sciences*, 20, 1-45.

- Bager, A. y Rosado, J. L. (2010). Estimation of core terrestrial habitats for freshwater turtles in southern Brazil based on nesting areas. *Journal of Herpetology*, 44(4), 658-662.
- Băncilă, R. I., Hartel, T., Plăiașu, R., Smets, J. y Cogălniceanu, D. (2010). Comparing three body condition indices in amphibians: a case study of yellow-bellied toad *Bombina variegata*. *Amphibia-Reptilia*, 31(4), 558-562.
- Barten, S. L. (2006). Shell damage. En D. Mader (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery* (2 ed., pp. 893-899). Elsevier.
- Bartram, J. y Ballance, R. (1996). *Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes*. UNEP/WHO.
- Bauer, D. E., Donadelli, J., Gómez, N., Licursi, M., Ocón, C., Paggi, A. C., Rodrigues Capítulo, A. y Tangorra, M. (2002). Ecological status of the Pampean plain streams and rivers (Argentina). *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*, 28(1), 259-262.
- Beau, F., Bustamante, P., Michaud, B. y Brischoux, F. (2019). Environmental causes and reproductive correlates of mercury contamination in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *Environmental Research*, 172, 338-344.
- Beau, F. y Brischoux, F. (2021). Fish-farming bolsters algal fouling and negatively affects condition and reproduction in European pond turtles (*Emys orbicularis*). *The Science of Nature*, 108(2), 1-8.
- Bennett, A. M. y Litzgus, J. D. (2014). Injury rates of freshwater turtles on a recreational waterway in Ontario, Canada. *Journal of Herpetology*, 48(2), 262-266.
- Bergeron, J. M., Crews, D. y McLachlan, J. A. (1994). PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environmental Health Perspectives*, 102(9), 780-781.
- Biaggini, M. y Corti, C. (2018). Facing habitat reduction in your own shell: patterns of non-lethal injuries in the endangered tortoise *Testudo hermanni* in Italy. *Herpetological Conservation and Biology*, 13(3), 539-550.

- Bidegain, J. C. y Jurado, S. (2011). Adsorción de contaminantes en sedimentos del Holoceno de la Región de la Plata. *Ciencia y Tecnología de los Materiales*, 1, 75-84.
- Bishop, C. A., Brooks, R. J., Carey, J. H., Ng, P., Norstrom, R. J. y Lean, D. R. (1991). The case for a cause-effect linkage between environmental contamination and development in eggs of the common snapping turtle (*Chelydra s. serpentina*) from Ontario, Canada. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 33(4), 521-547.
- Bishop, B. E., Savitzky, B. A. y Abdel-Fattah, T. (2010). Lead bioaccumulation in emydid turtles of an urban lake and its relationship to shell disease. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(4), 565-571.
- Bjorndal, K. A., Bolten, A. B., Lagueux, C. J. y Jackson, D. R. (1997). Dietary Overlap in Three Sympatric Congeneric Freshwater Turtles (*Pseudemys*) in Florida. *Chelonian Conservation and Biology*, 2(3), 430-433.
- Blouin-Demers, G. y Weatherhead, P. J. (2002). Habitat-specific behavioural thermoregulation by black rat snakes (*Elaphe obsoleta obsoleta*). *Oikos*, 97(1), 59-68.
- Bona, P. y Alcalde, L. (2009). Chondrocranium and skeletal development of *Phrynops hilarii* (Pleurodira: Chelidae). *Acta Zoologica*, 90(4), 301-325.
- Bondi, C. A. y Marks, S. B. (2013). Differences in flow regime influence the seasonal migrations, body size, and body condition of western pond turtles (*Actinemys marmorata*) that inhabit perennial and intermittent riverine sites in northern California. *Copeia*, 2013(1), 142-153.
- Bonino, M., Lescano, J., Haro, J. y Leynaud, G. (2009). Diet of Hydromedusa tectifera (Tetradimorpha-Chelidae) in a mountain stream of Córdoba province, Argentina. *Amphibia-Reptilia*, 30(4), 545-554.
- Bour, R. (2008). Global diversity of turtles (Chelonii; Reptilia) in freshwater. *Freshwater Animal Diversity Assessment*, 595, 593-598.
- Bowne, D. R., Cosentino, B. J., Anderson, L. J., Bloch, C. P., Cooke, S., Crumrine, P. W., ... y Zimmermann, C. R. (2018). Effects of urbanization on the population structure of freshwater turtles across the United States. *Conservation Biology*, 32(5), 1150-1161.

- Boyer, D. R. (1965). Ecology of the basking habit in turtles. *Ecology*, 46(1-2), 99-118.
- Boyer, T. H. (1991). Chelonian shell infections. *Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians*, 1(1), 3-3.
- Boyer, T. H. (2006). Turtles, tortoise and terrapins. En D. Mader (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery* (2 ed., pp. 696-704). Elsevier.
- Brenner, D., Lewbart, G., Stebbins, M. y Herman, D. W. (2002). Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 33(4), 311-316.
- Browne, C. L. y Hecnar, S. J. (2007). Species loss and shifting population structure of freshwater turtles despite habitat protection. *Biological Conservation*, 138(3-4), 421-429.
- Brusa, F. y Damborenea, M. C. (2000). First report of *Temnocephala brevicornis* Monticelli 1889 (Temnocephalidae: Platyhelminthes) in Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95, 81-82.
- Buhlmann, K. A. y Vaughan, M. R. (1991). Ecology of the turtle *Pseudemys concinna* in the New River, West Virginia. *Journal of Herpetology*, 25(1), 72-78.
- Bujes, C. S. (1998). Atividade de nidificação de *Phrynops hilarii* Duméril & Bibron (Testudines, Chelidae) na Reserva Biológica do Lami, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 15, 921-928.
- Bujes, C. S. y Verrastro, L. (2009). Nest temperature, incubation time, hatching and emergence in the Hilaire's side-necked turtle (*Phrynops hilarii*). *Herpetological Conservation and Biology*, 4(3), 306-312.
- Bulté, G. y Blouin-Demers, G. (2010). Estimating the energetic significance of basking behaviour in a temperate-zone turtle. *Ecoscience*, 17(4), 387-393.
- Bulté, G., Carriere, M. A. y Blouin-Demers, G. (2010). Impact of recreational power boating on two populations of northern map turtles (*Graptemys geographica*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 20(1), 31-38.
- Burger, J. (2006). Bioindicators: types, development, and use in ecological assessment and research. *Environmental Bioindicators*, 1(1), 22-39.

- Burgin, S. y Betts, J. (2012). Epibionts of the Australian Eastern Longnecked Turtle (*Chelodina longicollis* Shaw) from farm dams. *Australian Zoologist*, 36(2), 153-158.
- Burgin, S. y Renshaw, A. (2008). Epizoochory, algae and the Australian eastern long-necked turtle *Chelodina longicollis* (Shaw). *The American Midland Naturalist*, 160(1), 61-68.
- Burke, A. C. (1991). The development and evolution of the turtle body plan: inferring intrinsic aspects of the evolutionary process from experimental embryology. *American Zoologist*, 31(4), 616-627.
- Bury, R. B., Wehr, J. D., Bury, G. W., Baggett, C. L. y Doten, K. (2015). High incidence of filamentous algae on western pond turtles, *Actinemys marmorata*, in the Willamette Valley, Oregon. *Northwestern Naturalist*, 96(2), 150-153.
- Butler, C. J. (2019). A review of the effects of climate change on chelonians. *Diversity*, 11(138), 1-22.
- Cabrera, M. R., Haro, J. G. y Monguillot, J. C. (1986). Presencia de *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii* (Testudines: Chelidae) en la provincia de Córdoba, Argentina. *Academia Nacional de Ciencias, Miscelánea*, 73, 1-10.
- Cabrera, M. R. (1998). *Las tortugas continentales de Sudamérica Austral*. MR Cabrera.
- Cagle, F. R. (1939). A system of marking turtles for future identification. *Copeia*, 1939(3), 170-173.
- Campbell, T. W. (2006). Clinical pathology of reptiles. En: D. Mader (Ed.), *Reptile medicine and surgery* (2 ed., pp. 453-470). Elsevier.
- Carrière, M. A., Rollinson, N., Suley, A. N. y Brooks, R. J. (2008). Thermoregulation when the growing season is short: sex-biased basking patterns in a northern population of painted turtles (*Chrysemys picta*). *Journal of Herpetology*, 42(1), 206-209.
- Case, B. C., Lewbart, G. A. y Doerr, P. D. (2005). The physiological and behavioural impacts of and preference for an enriched environment in the eastern box turtle (*Terrapene carolina carolina*). *Applied Animal Behaviour Science*, 92(4), 353-365.
- Castaño, G. V., Cabagna Zenklusen, M., Prieto, Y. y Manzano, A. S. (2020). Análisis de genotoxicidad en eritrocitos de tortugas (*Phrynops hilarii*) de sitios antropizados y

- naturales de Entre Ríos, Argentina. *BAG. Journal of Basic and Applied Genetics*, 31(1), 15-22.
- Chessman, B. C. (1987). Atmospheric and aquatic basking of the Australian freshwater turtle *Emydura macquarii* (Gray) (Testudines: Chelidae). *Herpetologica*, 43(3), 301-306.
- Christiansen, J. L., Davis, D. R., Jacobson, E. R. y LaDuc, T. J. (2020). Carapacial shell disease process revealed by a long-term field study of the yellow mud turtle, *Kinosternon flavescens*, in Texas. *Journal of Herpetology*, 54(1), 1-8.
- Cingolani, A. M., Giorgis, M. A., Hoyos, L. E. y Cabido, M. (2022). La vegetación de las montañas de Córdoba (Argentina) a comienzos del siglo XXI: un mapa base para el ordenamiento territorial. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 57(1), 65-100.
- Chaffin, K., Norton, T. M., Gilardi, K., Poppenga, R., Jensen, J. B., Moler, P., ... y Mazet, J. (2008). Health assessment of free-ranging alligator snapping turtles (*Macrochelys temminckii*) in Georgia and Florida. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(3), 670-686.
- Chaviel, B. M., Mascarenhas, C. S., Corrêa, F., Silveira, E. C., Coimbra, M. A. A. y Müller, G. (2022). Diet of *Acanthochelys spixii* and *Hydromedusa tectifera* (Chelidae) in the southern Brazil. *Caldasia*, 44(1), 178-183.
- Chessman, B. C. (2020). Behavioural thermoregulation by Australian freshwater turtles: interspecific differences and implications for responses to climate change. *Australian Journal of Zoology*, 67(2), 94-105.
- Christopher, M. M., Berry, K. H., Wallis, I. R., Nagy, K. A., Henen, B. T. y Peterson, C. C. (1999). Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Desert. *Journal of Wildlife Diseases*, 35(2), 212-238.
- Christopher, M. M., Berry, K. H., Henen, B. T. y Nagy, K. A. (2003). Clinical disease and laboratory abnormalities in free-ranging desert tortoises in California (1990-1995). *Journal of Wildlife Diseases*, 39, 35-56.
- Chung, C. S., Cheng, C. H., Chin, S. C., Lee, A. H. y Chi, C. H. (2009). Morphologic and cytochemical characteristics of Asian yellow pond turtle (*Ocadia sinensis*) blood cells and

- their hematologic and plasma biochemical reference values. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 40(1), 76-85.
- Clarke, K. R. y Warwick, R. M. (2001). *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation* (2da ed.). PRIMER-E Ltd.
- Clavijo-Baquet, S. y Magnone, L. (2017). Daily and seasonal basking behavior in two South American freshwater turtles, *Trachemys dorbigni* and *Phrynops hilarii*. *Chelonian Conservation and Biology*, 16(1), 62-69.
- Coleman, J. L. y Gutberlet Jr., R. L. (2008). Seasonal variation in basking in two syntopic species of map turtles (Emydidae: *Graptemys*). *Chelonian Conservation and Biology*, 7(2), 276-281.
- Conner, C. A., Douthitt, B. A. y Ryan, T. J. (2005). Descriptive ecology of a turtle assemblage in an urban landscape. *The American Midland Naturalist*, 153(2), 428-435.
- Cooper, J. E. (2006). Dermatology. En D. Mader (Ed.), *Reptile Medicine and Surgery* (2 ed., pp. 196-216). Elsevier.
- Corkery, I., Bell, B. D. y Nelson, N. J. (2014). Behavioral thermoregulation of the tuatara, *Sphenodon punctatus*, under hydric and digestive constraints. *Herpetological Conservation and Biology*, 9(1), 29-37.
- Crump, P. S., Robertson, S. J. y Rommel-Crump, R. E. (2016). High incidence of road-killed freshwater turtles at a lake in east Texas, USA. *Herpetological Conservation and Biology*, 11(1), 181-187.
- Daga, I. C., Fernández Belmonte, M. C. y Reyna, S. M. (2020). Composición algal y bioindicadores de calidad de agua. Caso de estudio: Embalse San Roque, Córdoba. Argentina. *Cuadernos del CURIHAM*, 26, 1-11.
- da Silva Lucas, P., dos Santos Lima, J. C., Costa, A. S., Silveira, M. L. y Bager, A. (2020). Biometric and sexual dimorphism variation of *Hydromedusa tectifera* in Brazil. *Basic and Applied Herpetology*, 34, 47-57.
- Davis, A. K., Maney, D. L. y Maerz, J. C. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22(5), 760-772.

- de Oliveira, J. S. P., Vieira, L. G., Carvalho, W. F., de Souza, M. B., de Lima Rodrigues, A. S., Simões, K., de Melo de Silva, D., dos Santos Mendonça, J., Hirano, L. Q. L., Santos, A. L. Q. y Malafaia, G. (2020). Mutagenic, genotoxic and morphotoxic potential of different pesticides in the erythrocytes of *Podocnemis expansa* neonates. *Science of the Total Environment*, 737, 140304.
- de Solla, S. R., Bishop, C. A., Van Der Kraak, G. y Brooks, R. J. (1998). Impact of organochlorine contamination on levels of sex hormones and external morphology of common snapping turtles (*Chelydra serpentina serpentina*) in Ontario, Canada. *Environmental Health Perspectives*, 106(5), 253-260.
- de Solla, S. R., Fernie, K. J., Letcher, R. J., Chu, S. G., Drouillard, K. G. y Shahmiri, S. (2007). Snapping turtles (*Chelydra serpentina*) as bioindicators in Canadian areas of concern in the Great Lakes Basin. 1. Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticides in eggs. *Environmental science & technology*, 41(21), 7252-7259.
- Di Pietro, D. O., Alcalde, L., Williams, J. D. y Cabrera, M. R. (2012). *Hydromedusa tectifera* (South American snake-necked turtle). *Herpetological Review*, 43, 303.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. (2020). InfoStat versión. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- de Mello, D. M. y Alvarez, M. C. (2020). Health assessment of juvenile green turtles in southern São Paulo State, Brazil: A hematologic approach. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 32(1), 25-35.
- Dodd, C. K. (1989). Secondary sex ratio variation among populations of the flattened musk turtle. *Sternotherus depressus*. *Copeia*, 1989(4), 1041-1045.
- Dodd Jr., C. K. (1988). Disease and population declines in the flattened musk turtle *Sternotherus depressus*. *American Midland Naturalist*, 119(2), 394-401.
- dos Santos, R. G., Martins, A. S., Torezani, E., Baptistotte, C., da Nóbrega Farias, J., Horta, P. A., Work, T. M. y Balazs, G. H. (2010). Relationship between fibropapillomatosis and

- environmental quality: a case study with *Chelonia mydas* off Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms*, 89(1), 87-95.
- Dubois, Y., Blouin-Demers, G. y Thomas, D. (2008). Temperature selection in wood turtles (*Glyptemys insculpta*) and its implications for energetics. *Écoscience*, 15(3), 398-406.
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C., Naiman, R. J., Prieur-Richard, A. H., Soto, D., Stiassny, M. L. J. y Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological reviews*, 81(2), 163-182.
- Dupuis-Désormeaux, M., D'Elia, V., Cook, C., Pearson, J., Adhikari, V. y MacDonald, S. E. (2017). Remarkable male bias in a population of midland painted turtles (*Chrysemys picta marginata*) in Ontario, Canada. *Herpetological Conservation and Biology*, 12, 225-232.
- Edgren, R. A., Edgren, M. K., y Tiffany, L. H. (1953). Some North American turtles and their epizootic algae. *Ecology*, 34(4), 733-740.
- Edmonds, J. H. y Brooks, R. J. (1996). Demography, sex ratio, and sexual size dimorphism in a northern population of common musk turtles (*Sternotherus odoratus*). *Canadian Journal of Zoology*, 74(5), 918-925.
- Erdélyi, G., Szabó, B. y Kiss, I. (2019). Basking activity pattern of the European pond turtle, *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) in Babat valley (Gödöllő, Hungary). *Herpetozoa*, 32, 221-227.
- Ernst, C. H. (1986). Ecology of the turtle, *Sternotherus odoratus*, in southeastern Pennsylvania. *Journal of Herpetology*, 20(3), 341-352.
- Ersanli, E. T. y Gonulol, A. (2014). Epizootic composition on spotted turtle *Emys orbicularis* (Linnaeus, 1758) in Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 43(2), 157-161.
- Estrades, A., Clavijo-Baquet, S. y Fallabrino, A. (2008). Tortugas Dulceacuícolas del Uruguay. Biología y Conservación. En Estado (Ed.), *Almanaque* (pp. 180-185). Banco de Seguros del Estado.
- Ewert, M. A., Jackson, D. R. y Nelson, C. E. (1994). Patterns of temperature-dependent sex determination in turtles. *Journal of Experimental Zoology*, 270(1), 3-15.

- Failley, E. L., McCoy, J. C., Price, S. J. y Dorcas, M. E. (2007). Ecology of turtles inhabiting golf course and farm ponds in the western Piedmont of North Carolina. *Journal of the North Carolina Academy of Science*, 123(4), 221-232.
- Famelli, S., Souza, F. L., Georges, A. y Bertoluci, J. (2016). Movement patterns and activity of the Brazilian snake-necked turtle *Hydromedusa maximiliani* (Testudines: Chelidae) in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 37(2), 215-228.
- Farrell, R. F. y Graham, T. E. (1991). Ecological notes on the turtle *Clemmys insculpta* in northwestern New Jersey. *Journal of Herpetology*, 25(1), 1-9.
- Fasola, E., Biaggini, M., Ortiz-Santaliestra, M. E., Costa, S., Santos, B., Lopes, I. y Corti, C. (2022). Assessing Stress Response in Lizards from Agroecosystems with Different Management Practices. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 108(2), 196-203.
- Feijoó, C. y Menéndez, M. (2009). La biota de los ríos: los macrófitos. En A. Elosegí y S. Sabater (Eds.), *Conceptos y técnicas en ecología fluvial* (pp. 243-252). Fundación BBVA.
- Feldman, M. L. y Feldman, M. B. (2011). A tale of two shell diseases: observations of two shell diseases present in breeding operations of the red-eared slider turtle (*Trachemys scripta elegans*). *Turtle and Tortoise Newsletter*, 15, 25-29.
- Ferronato, B. O., Genoy-Puerto, A., Piña, C. I., Souza, F. L., Verdade, L. M. y Matushima, E. R. (2009). Notes on the hematology of free-living *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) in polluted rivers of Southeastern Brazil. *Zoologia*, 26(4), 795-798.
- Ferronato, B. O., Roe, J. H. y Georges, A. (2017). Responses of an Australian freshwater turtle to drought-flood cycles along a natural to urban gradient. *Austral Ecology*, 42(4), 442-455.
- Fisher, R. A. (1930). *The genetical theory of natural selection*. Clarendon.
- Fitzgerald, L. A. y Nelson, R. E. (2011). Thermal biology and temperature-based habitat selection in a large aquatic ectotherm, the alligator snapping turtle, *Macrolemys temminckii*. *Journal of Thermal Biology*, 36(3), 160-166.

- Fränzle, O. (2003). Bioindicators and environmental stress assessment. En B. Markert, A. Breure y H. Zechmeister (Eds.), *Trace Metals and other Contaminants in the Environment* (Vol. 6, pp. 41-84). Elsevier.
- Freedberg, S., Lee, C. y Pappas, M. (2011). Agricultural practices alter sex ratios in a reptile with environmental sex determination. *Biological conservation*, 144(3), 1159-1166.
- Freiberg, M. (1981). *Turtles of South America*. TFH Publications.
- Frenguelli, J. (1956). *Rasgos generales de la hidrografía de la provincia de Buenos Aires*. Provincia de Buenos Aires, Ministerio de Obras Públicas, Laboratorio de Ensayo de Materiales e Investigaciones Tecnológicas (N° 62).
- Gallardo, J.M. (1987). *Anfibios y reptiles del Partido del Magdalena (provincia de Buenos Aires)*. Museo Argentino de Ciencias Naturales" Bernardino Rivadavia".
- Garbary, D. J., Bourque, G., Herman, T. B. y McNeil, J. A. (2007). Epizoic algae from freshwater turtles in Nova Scotia. *Journal of Freshwater Ecology*, 22(4), 677-685.
- Garber, S. D. y Burger, J. (1995). A 20-yr study documenting the relationship between turtle decline and human recreation. *Ecological Applications*, 5(4), 1151-1162.
- Garner, M. M., Herrington, R., Howerth, E. W., Homer, B. L., Nettles, V. F., Isaza, R., Shotts Jr., E. B. y Jacobson, E. R. (1997). Shell disease in river cooters (*Pseudemys concinna*) and yellow-bellied turtles (*Trachemys scripta*) in a Georgia (USA) lake. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(1), 78-86.
- Geist, J. (2011). Integrative freshwater ecology and biodiversity conservation. *Ecological Indicators*, 11(6), 1507-1516.
- Georges, A., Guarino, F. y White, M. (2006). Sex-ratio bias across populations of a freshwater turtle (Testudines: Chelidae) with genotypic sex determination. *Wildlife Research*, 33(6), 475-480.
- Gerhardt, A. (2002). Bioindicator species and their use in biomonitoring. *Environmental Monitoring*, 1, 77-123.
- Germano, D. J. (2010). Ecology of western pond turtles (*Actinemys marmorata*) at sewage-treatment facilities in the San Joaquin Valley, California. *The Southwestern Naturalist*, 55(1), 89-97.

- Gibbons, J. W. (1968). Carapacial algae in a population of the painted turtle, *Chrysemys picta*. *American Midland Naturalist*, 79(2), 517-519.
- Gibbons, J. W. (1990). Sex ratios and their significance among turtle populations. En J. W. Gibbons (Ed.), *Life History and Ecology of the Slider Turtle* (pp. 171-182). Smithsonian Institution Press.
- Gibbs, J. P. y Steen, D. A. (2005). Trends in sex ratios of turtles in the United States: implications of road mortality. *Conservation Biology*, 19(2), 552-556.
- Gil, V. y Campo, A. M. (2006). Caracterización morfológica sectorizada del río Sauce Grande, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Geográfica de Valparaíso*, 38, 19-28.
- Giorgi, A., Feijoó, C. y Tell, G. (2005). Primary producers in a Pampean stream: temporal variation and structuring role. *Biodiversity & Conservation*, 14(7), 1699-1718.
- Gómez, N. y Licursi, M. (2001). The Pampean Diatom Index (IDP) for assessment of rivers and streams in Argentina. *Aquatic Ecology*, 35(2), 173-181.
- Gómez, S.E. y Toresani, N.I. (1999). Región 3. Pampas. En P. Canevari, D. Blanco, E. Bucher, G. Castro y I. Davidson (Eds.), *Los humedales de la Argentina. Clasificación, situación actual, conservación y legislación* (Vol. 46, pp. 97-114). Wetlands Internacional.
- Goodman, R. M., Carter, E. D. y Miller, D. L. (2021). Influence of Herbicide Exposure and Ranavirus Infection on Growth and Survival of Juvenile Red-Eared Slider Turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Viruses*, 13(8), 1440.
- Granados, J. L., Moreno, O. G. y Brieva, C. I. (2013). Lesiones ulcerativas cutáneas en tortugas dulceacuícolas. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 60(1), 61-70.
- Grayson, K. L. y Dorcas, M. E. (2004). Seasonal temperature variation in the painted turtle (*Chrysemys picta*). *Herpetologica*, 60(3), 325-336.
- Green, A. J. (2001). Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology*, 82(5), 1473-1483.
- Gudynas, E. (1989). Amphibians and reptiles of a coastal periurban ecosystem (Solymar, Uruguay): list, preliminary analysis of community structure, and conservation. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society*, 25(3), 85-123.

- Guerrero, E. L., Suazo Lara, F., Chimento, N. R., Buet, F. y Simón, P. (2012). Relevamiento biótico de la costa rioplatense de los partidos de Quilmes y Avellaneda (Buenos Aires, Argentina). Parte I: Aspectos ambientales, botánicos y fauna de Opiliones (Arachnida), Mygalomorphae (Arachnida) y Chilopoda (Myriapoda). *Historia Natural, tercera serie*, 2(2), 31-56.
- Guerrero, E. L., Jorge, D. y Tonni, E. P. (2018). La Selva Marginal de Punta Lara, ¿relicto o colonización reciente? *Revista del Museo de La Plata*, 3, 348-367.
- Hammond, K. A., Spotila, J. R. y Standora, E. A. (1988). Basking behavior of the turtle *Pseudemys scripta*: effects of digestive state, acclimation temperature, sex, and season. *Physiological Zoology*, 61(1), 69-77.
- Harris, H. S., Benson, S. R., Gilardi, K. V., Poppenga, R. H., Work, T. M., Dutton, P. H. y Mazet, J. A. (2011). Comparative health assessment of western Pacific leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) foraging off the coast of California, 2005–2007. *Journal of Wildlife Diseases*, 47(2), 321-337.
- Hassani, M. S. E., Slimani, T. y Bonnet, X. (2019). Morphological and physiological assessments reveal that freshwater turtle (*Mauremys leprosa*) can flourish under extremely degraded-polluted conditions. *Chemosphere*, 220, 432-441.
- Heatley, J. J., y Russell, K. E. (2010). Box turtle (*Terrapene* spp.) Hematology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 19(2), 160-164.
- Herbst, L. H. y Klein, P. A. (1995). Green Turtle Fibropapillomatosis: challenges to assessing the role of environmental cofactors. *Environmental Health Perspectives*, 103(4), 27-30.
- Héritier, L., Duval, D., Galinier, R., Meistertzheim, A. L. y Verneau, O. (2017). Oxidative stress induced by glyphosate-based herbicide on freshwater turtles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(12), 3343-3350.
- Hernandez-Divers, S. J., Hensel, P., Gladden, J., Hernandez-Divers, S. M., Buhlmann, K. A., Hagen, C., Sánchez, S., Latimer, K. S., Ard, M. y Camus, A. C. (2009). Investigation of shell disease in map turtles (*Graptemys* spp.). *Journal of Wildlife Diseases*, 45(3), 637-652.

- Hernández-Guzmán, J., Trinidad, A. A., Fraire-Vázquez, A., De la cruz-Izquierdo, R. I., García-Guzmán, N. C. y Ruiz, X. (2015). Cromosomas, lesión del ADN y malformación nuclear en la tortuga dulceacuícola *Kinosternon leucostomum* (Testudines: Kinosternidae). *The Biologist (Lima)*, 13(2), 201-211.
- Hidalgo-Vila, J., Díaz-Paniagua, C., Pérez-Santigosa, N., Plaza, A., Camacho, I. y Recio, F. (2007). Hematologic and biochemical reference intervals of free-living Mediterranean pond turtles (*Mauremys leprosa*). *Journal of Wildlife Diseases*, 43(4), 798-801.
- Huckembeck, S. y Quintela, F.M. (2013). Natural History Notes: *Hydromedusa tectifera*. *Herpetological Bulletin*, 123, 26-30.
- Ibáñez, A., Marzal, A., González-Blázquez, M., López, P. y Martín, J. (2015). Basking activity is modulated by health state but is constrained by conspicuousness to predators in male Spanish terrapins. *Ethology*, 121(4), 335-344.
- INDEC (2010). *Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010*. <https://www.indec.gob.ar>
- IUCN (2016). Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 12. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission.
- Janzen, F. J., Paukstis, G. L. y Brodie, E. D. (1992). Observations on basking behavior of hatching turtles in the wild. *Journal of Herpetology*, 26(2), 217-219.
- Janzen, F. J. (1994). Climate change and temperature-dependent sex determination in reptiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91, 7487-7490.
- Kaplan, H. M. (1957). Septicemic cutaneous ulcerative disease of turtles. *Proceedings Animal Care Panel*, 7, 273-277).
- Keller, J. M., Kucklick, J. R., Stamper, M. A., Harms, C. A. y McClellan-Green, P. D. (2004). Associations between organochlorine contaminant concentrations and clinical health parameters in loggerhead sea turtles from North Carolina, USA. *Environmental Health Perspectives*, 112(10), 1074-1079.

- Keller, K. A., Guzman, D. S. M., Paul-Murphy, J., Byrne, B. A., Owens, S. D., Kass, P. H. y Weber III, E. S. (2012). Hematologic and plasma biochemical values of free-ranging western pond turtles (*Emys marmorata*) with comparison to a captive population. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 22(3-4), 99-106.
- Kelly, D. W., Poulin, R., Tompkins, D. M. y Townsend, C. R. (2010). Synergistic effects of glyphosate formulation and parasite infection on fish malformations and survival. *Journal of Applied Ecology*, 47(2), 498-504.
- Kimble, S. J. y Williams, R. N. (2012). Temporal variance in hematologic and plasma biochemical reference intervals for free-ranging eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). *Journal of Wildlife Diseases*, 48(3), 799-802.
- Kittle, R. P., McDermid, K. J., Muehlstein, L. y Balazs, G. H. (2018). Effects of glyphosate herbicide on the gastrointestinal microflora of Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*) Linnaeus. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 170-174.
- Knotkova, Z., Doubek, J., Knotek, Z. y Hájková, P. (2002). Blood cell morphology and plasma biochemistry in Russian tortoises (*Agrionemys horsfieldi*). *Acta Veterinaria Brno*, 71(2), 191-198.
- Knotkova, Z., Mazanek, S., Hovorka, M., Sloboda, M. y Knotek, Z. (2005). Haematology and plasma chemistry of Bornean River turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. *Veterinary Medicine Czech*, 50, 421-426.
- Komoroske, L. M., Lewison, R. L., Seminoff, J. A., Deheyn, D. D. y Dutton, P. H. (2011). Pollutants and the health of green sea turtles resident to an urbanized estuary in San Diego, CA. *Chemosphere*, 84(5), 544-552.
- Krawchuk, M. A. y Brooks, R. J. (1998). Basking behavior as a measure of reproductive cost and energy allocation in the painted turtle, *Chrysemys picta*. *Herpetologica*, 54(1), 112-121.
- Kunz, T. S., Ghizoni-Jr, I. R., Cherem, J. J., Bressan, R. F., Leonardi, S. B. y Zanotelli, J. C. (2018). New records, threats and conservation of *Phrynops williamsi* (Testudines: Chelidae) in Southern Brazil. *Herpetology Notes*, 11, 147-152.

- La Colla, N. S., Zunino, J., Brendel, A. S., Baleani, C. A., Menéndez, M. C., Botté, S. E., Alfonso, M. B., Gil, V., Bustamante, J. L. y Piccolo, M. C. (2019). *Calidad del agua en relación al uso del suelo: determinación de metales en la cuenca del río Sauce Grande (provincia de Buenos Aires, Argentina)*. X Congreso de Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos, Azul, Buenos Aires, Argentina.
- Latorre, M. A., López González, E. C., Siroski, P. A. y Poletta, G. L. (2015). Basal frequency of micronuclei and hematological parameters in the Side-necked Turtle, *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron, 1835). *Acta Herpetológica*, 10(1), 31-37.
- Lavarías, S., Ocon, C., van Oosterom, V. L., Laino, A., Medesani, D. A., Fassiano, A., Garda, H., Donadelli, J., Ríos de Molina, M. y Capítulo, A. R. (2017). Multibiomarker responses in aquatic insect *Belostoma elegans* (Hemiptera) to organic pollution in freshwater system. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1322-1337.
- Lawrence, K. y Hawkey, C. (1986). Seasonal variations in haematological data from Mediterranean tortoises (*Testudo graeca* and *Testudo hermanni*) in captivity. *Research in Veterinary Science*, 40(2), 225-230.
- Laws, E. A. (1981). *Aquatic Pollution*. Wiley.
- Lefevre, K. y Brooks, R. J. (1995). Effects of sex and body size on basking behavior in a northern population of the painted turtle, *Chrysemys picta*. *Herpetologica*, 51(2), 217-224.
- Leineweber, C., Stöhr, A. C., Öfner, S., Mathes, K. y Marschang, R. E. (2019). Changes in plasma chemistry parameters in Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*) influenced by season and sex. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 29(3-4), 113-122.
- Lema, T. D. y Ferreira, M. T. S. (1990). Contribuição ao conhecimento dos testudines do Rio Grande do Sul (Brasil)-lista sistemática comentada (Reptilia). *Acta Biologica Leopoldensia*, 12(1), 125-164.

- Lescano, J., Bonino, M. y Leynaud, G. (2008). Density, population structure and activity pattern of *Hydromedusa tectifera* (Testudines-Chelidae) in a mountain stream of Córdoba province, Argentina. *Amphibia-Reptilia*, 29(4), 505-512.
- Lewbart, G. A., Hirschfeld, M., Denking, J., Vasco, K., Guevara, N., García, J., Muñoz, J. P. y Lohmann, K. J. (2014). Blood gases, biochemistry, and hematology of Galapagos green turtles (*Chelonia mydas*). *PLoS One*, 9(5), e96487.
- Li, L., Zheng, B. y Liu, L. (2010). Biomonitoring and bioindicators used for river ecosystems: definitions, approaches and trends. *Procedia environmental sciences*, 2, 1510-1524.
- Lindsay, M. K., Zhang, Y., Forstner, M. R. y Hahn, D. (2013). Effects of the freshwater turtle *Trachemys scripta elegans* on ecosystem functioning: an approach in experimental ponds. *Amphibia-Reptilia*, 34(1), 75-84.
- Liscia, S. (2013). *Estudio sobre la inundación ocurrida los días 2 y 3 de abril en las ciudades de La Plata, Berisso y Ensenada. Informe Técnico Departamento de Hidráulica.* Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata.
- López, M. S., Sione, W., Leynaud, G. C., Prieto, Y. A. y Manzano, A. S. (2013). How far from water? Terrestrial dispersal and nesting sites of the freshwater turtle *Phrynops hilarii* in the floodplain of the Paraná River (Argentina). *Zoological science*, 30(12), 1063-1069.
- López Van Oosterom, M. V., Ocon, C. S., Armendáriz, L. C. y Rodrigues Capítulo, A. (2015). Structural and functional responses of the oligochaete and aeolosomatid assemblage in lowland streams: a one-way-pollution-modelled ecosystem. *Journal of Limnology*, 74(3), 477-490.
- Lovich, J. E., Gotte, S. W., Ernst, C. H., Harshbarger, J. C., Laemmerzahl, A. F. y Gibbons, J. W. (1996). Prevalence and histopathology of shell disease in turtles from Lake Blackshear, Georgia. *Journal of Wildlife Diseases*, 32(2), 259-265.
- Lovich, J. E., Ennen, J. R., Agha, M. y Gibbons, J. W. (2018). Where have all the turtles gone, and why does it matter? *BioScience*, 68(10), 771-781.

- Luiselli, L., Akani, G. C., Politano, E., Odegbune, E. y Bello, O. (2004). Dietary shifts of sympatric freshwater turtles in pristine and oil-polluted habitats of the Niger Delta, southern Nigeria. *Herpetological Journal*, 14(2), 57-64.
- Lutcavage, M. E., Lutz, P. L., Bossart, G. D. y Hudson, D. M. (1995). Physiologic and clinicopathologic effects of crude oil on loggerhead sea turtles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 28(4), 417-422.
- Luti, R., Bertrán De Solís, M.A., Galera, M.F., Muller de Ferreira, M., Bersal, M., Nores, M., Herrera, M.A. y Barrera, J.C. (1979). Vegetación. En J. Vázquez, R. Miatello y M. Roqué (Eds.), *Geografía física de la provincia de Córdoba* (pp. 297-368). Boldt.
- Maceda-Veiga, A., Figuerola, J., Martínez-Silvestre, A., Viscor, G., Ferrari, N. y Pacheco, M. (2015). Inside the Redbox: applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. *Science of the Total Environment*, 514, 322-332.
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, L. y Marino, D. J. (2017). Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*, 598, 572-580.
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, M. L. y Marino, D. J. (2022). Multiple pesticides occurrence, fate, and environmental risk assessment in a small horticultural stream of Argentina. *Science of The Total Environment*, 802, 149893.
- Malmqvist, B. y Rundle, S. (2002). Threats to the running water ecosystems of the world. *Environmental Conservation*, 29(2), 134-153.
- Manning, B. y Grigg, G. C. (1997). Basking is not of thermoregulatory significance in the "Basking" freshwater turtle *Emydura signata*. *Copeia*, 3, 579-584.
- Markert, B. A., Breure, A. M. y Zechmeister, H. G. (2003). Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. En B. Markert, A. Breure y H. Zechmeister (Eds.), *Trace Metals and other Contaminants in the Environment* (Vol. 6, pp. 3-39). Elsevier.
- Martínez-Aquino, A., Brusa, F. y Damborenea, C. (2014). Checklist of freshwater symbiotic temnocephalans (Platyhelminthes, Rhabditophora, Temnocephalida) from the Neotropics. *Zoosystematics and Evolution*, 90, 147.

- Martins, F. I., De Souza, F. L. y Da Costa, H. T. M. (2010). Feeding habits of *Phrynops geoffroanus* (Chelidae) in an urban river in Central Brazil. *Chelonian Conservation and Biology*, 9(2), 294-297.
- Mascarenhas, C. S., Silva, R. Z. y Müller, G. (2018). Temnocéfalos sobre *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines, Emydidae): implicancias de los ambientes antropogénicos y los géneros de las tortugas en la relación simbiótica. *Neotropical Helminthology*, 12(2), 201-211.
- Mazzoleni, S., Augstenová, B., Clemente, L., Auer, M., Fritz, U., Praschag, P., Protiva, T., Velenky, P., Kratochvíl, L. y Rovatsos, M. (2020). Sex is determined by XX/XY sex chromosomes in Australasian side-necked turtles (Testudines: Chelidae). *Scientific reports*, 10(1), 1-11.
- Menni, R. C. (2004). *Monografías del Museo Argentino de Ciencias Naturales*. Estudio Sigma S.R.L.
- Mercado, L. (2000). Evaluación de la calidad de las aguas de seis sistemas lóticos pampásicos mediante el estudio de variables físicas y químicas. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales, nueva serie*, 2(1), 27-35.
- Meyer, E., Sparling, D. y Blumenshine, S. (2013). Regional inhibition of cholinesterase in free-ranging western pond turtles (*Emys marmorata*) occupying California mountain streams. *Environmental toxicology and chemistry*, 32(3), 692-698.
- Ming-ch'eng Adams, C. I., Baker, J. E. y Kjellerup, B. V. (2016). Toxicological effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) on freshwater turtles in the United States. *Chemosphere*, 154, 148-154.
- Mitchell, J. C. (1988). Population ecology and life histories of the freshwater turtles *Chrysemys picta* and *Sternotherus odoratus* in an urban lake. *Herpetological Monographs*, 2, 40-61.
- Molina, F., Oliveira Ferronato, B. y Souza, L. (2016). Freshwater turtles in natural, rural and urban ecosystems in Sao Paulo State, southeastern Brazil. En C. Gheler-Costa, M. C. Lyra-Jorge y L. Martins Verdade (Eds.), *Biodiversity in Agricultural Landscapes of Southeastern Brazil* (pp. 151-162). De Gruyter Open.

- Molina, F. J. y Leynaud, G. C. (2017). Thermoconformity strategy in the freshwater turtle *Hydromedusa tectifera* (Testudines, Chelidae) in its southern distribution area. *Journal of Thermal Biology*, 69, 178-183.
- Moll, E. O. y Legler, J. M. (1971). The life history of the slider turtle, *Pseudemys scripta* (Schoepff), in Panama. *Bulletin of the Los Angeles Country Museum of Natural History*, 11, 69-70.
- Moraru, V. E., Zamfirescu, Ș. R., Ciocănașu, M. A. y Murariu, D. (2018). High incidence of shell injuries in an isolated population of the spur-thighed tortoise (*Testudo graeca iberica*) from Romania. *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle «Grigore Antipa»*, 61(1), 45-52.
- Morello, J., Matteucci, S. D., Rodriguez, A. F., Silva, M. E., Mesopotámica, P. y Llana, P. (2012). *Ecorregiones y complejos Ecosistémicos de Argentina*. Orientación Gráfica Editora.
- Mota, J. L., Brown, D. J., Canning, D. M., Crayton, S. M., Lozon, D. N., Gulette, A. L., Anderson, J. T., Mali, I., Dickerson, B. E., Forstner, M. R. J., Watson, M. B. y Pauley, T. K. (2021). Influence of landscape condition on relative abundance and body condition of two generalist freshwater turtle species. *Ecology and evolution*, 11(10), 5511-5521.
- Müller, M. M. P., Ortega, Z., Antunes, P. C., Seino, L. L., Hammarström, M. J., Balbino-Silva, A. C. F. y Oliveira-Santos, L. G. R. (2019). The home range of adult *Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) in relation to sex and body mass. *Herpetozoa*, 32, 259-265.
- Nagle, R. D., Rowe, C. L. y Congdon, J. D. (2001). Accumulation and selective maternal transfer of contaminants in the turtle *Trachemys scripta* associated with coal ash deposition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40(4), 531-536.
- Namroodi, S., Zaccaroni, A., Rezaei, H. y Hoseini, S. M. (2018). Evaluating heavy metal contamination effects on the caspian pond turtle health (*Mauremys caspica caspica*) through analyzing oxidative stress factors. *International Journal of Epidemiologic Research*, 5(4), 145-150.

- Natt, M. P. y Herrick, C. A. (1952). A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Science*, 31(4), 735-738.
- Noletto, R. B., Kantek, D. L. Z., Swarça, A. C., Dias, A. L., Fenocchio, A. S. y Cestari, M. M. (2006). Karyotypic characterization of *Hydromedusa tectifera* (Testudines, Pleurodira) from the upper Iguazu River in the Brazilian state of Paraná. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 263-266.
- Noreña, C., Damborenea, C. y Brusa, F. (2004). Platyhelminthes de vida libre -Microturbellaria- dulceacuícolas en Argentina. *Miscelánea*, 12, 225-238.
- Norton, T. M. (2005). Chelonian emergency and critical care. *Seminars in avian and exotic pet medicine*, 14(2), 106-130.
- Novelli, I. A., de Sousa, B. M., de Carvalho A. R., de Almeida Bessa, E. C. y de Souza Lima, S. (2009). Ocorrência de *Temnocephala brevicornis* Monticelli, 1889 (Platyhelminthes, Temnocephalidae) associada a *Hydromedusa maximiliani* (Mikan, 1820) (Testudines, Chelidae) em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências* 11(2), 175-179.
- Obbard, M. E. y Brooks, R. J. (1979). Factors affecting basking in a northern population of the common snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Canadian Journal of Zoology*, 57(2), 435-440.
- Ocón, C. y Rodrigues Capítulo, A. (2012). Assessment of water quality in temperate-plain streams (Argentina, South America) using a multiple approach. *Ecología Austral*, 22, 81-91.
- O'Connor, M. P., Grumbles, J. S., George, R. H., Zimmerman, L. C. y Spotila, J. R. (1994). Potential hematological and biochemical indicators of stress in free-ranging desert tortoises and captive tortoises exposed to a hydric stress gradient. *Herpetological Monographs*, 8, 5-26.
- Oliveira-Junior, A. A., Tavares-Dias, M. y Marcon, J. L. (2009). Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. *Research in Veterinary Science*, 86(1), 146-151.

- Ometo, J. P. H., Martinelli, L. A., Ballester, M. V., Gessner, A., Krusche, A. V., Victoria, R. L. y Williams, M. (2000). Effects of land use on water chemistry and macroinvertebrates in two streams of the Piracicaba river basin, south-east Brazil. *Freshwater Biology*, 44(2), 327-337.
- Omonona, A. O., Olukole, S. G. y Fushe, F. A. (2011). Haematology and serum biochemical parameters in free-ranging African side neck turtle (*Pelusios sinuatus*) in Ibadan, Nigeria. *Acta Herpetologica*, 6(2), 267-274.
- Otero, G. Á., Rojano Bolaño, C., Carrascal Velásquez, J., Chacón Pacheco, J. y Martínez Bravo, C. M. (2014). Histopatología de órganos y lesiones en hicoteas *Trachemys callirostris callirostris* (Gray, 1856) mantenidas en cautiverio en Córdoba, Colombia. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 9(1), 15-25.
- Özvegy, J., Marinković, D., Vučićević, M., Gajić, B., Stevanović, J., Krnjaić, D. y Aleksić-Kovačević, S. (2015). Cytological and molecular identification of *Haemogregarina stepanowi* in blood samples of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) from quarantine at Belgrade zoo. *Acta Veterinaria-Beograd*, 65(4), 443-453.
- Pagés, T., Peinado, V. I. y Viscor, G. (1992). Seasonal changes in hematology and blood chemistry of the freshwater turtle *Mauremys caspica leprosa*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 103(2), 275-278.
- Palumbo, E., Cassano, M. J., Capasso, S. C., Bonino, M., Alcalde, L. y Diaz, J. I. (2014). *Nematodes parásitos de Hydromedusa tectifera (Testudines: Chelidae) de la provincia de Córdoba, Argentina*. XV Congreso de Herpetología, Mendoza, Argentina.
- Palumbo, E., Capasso, S. C., Cassano, M. J., Alcalde, L. y Diaz, J. I. (2016). *Spiroxys contortus* (Rudolphi, 1819) and *Hedruris orestiae* (Moniez, 1889) in Argentine turtles. *Check List*, 12(6), 1-6.
- Palumbo, E., Cassano, M. J., Alcalde, L. y Diaz, J. I. (2021). Seasonal variation of *Hedruris dratini* (Nematoda) parasitizing *Hydromedusa tectifera* (Chelidae), with focus on host's torpor state. *BMC Zoology*, 6(1), 1-10.
- Paracampo, A., Marrochi, N., García, I., Maiztegui, T., Carriquiriborde, P., Bonetto, C. y Mugni, H. (2020). Fish assemblages in Pampean streams (Buenos Aires, Argentina):

- relationship to abiotic and anthropic variables. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92(2), e20190476.
- Patino-Martínez, J., Vallarino, A. y González Zuarth, C. (2014). Las especies “bandera” como bioindicadores ambientales: las tortugas marinas. En C. González Zuarth, A. Vallarino, J. Pérez Jiménez y A. Low Pfeng (Eds.), *Bioindicadores: guardianes de nuestro futuro ambiental* (pp. 253-270). ECOSUR.
- Perpiñán, D., Hernandez-Divers, S. M., Latimer, K. S., Akre, T., Hagen, C., Buhlmann, K. A. y Hernandez-Divers, S. J. (2008). Hematology of the Pascagoula map turtle (*Graptemys gibbonsi*) and the southeast Asian box turtle (*Cuora amboinensis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 39(3), 460-463.
- Picard, G., Carrière, M. A. y Blouin-Demers, G. (2011). Common musk turtles (*Sternotherus odoratus*) select habitats of high thermal quality at the northern extreme of their range. *Amphibia-Reptilia*, 32(1), 83-92.
- Pinkas, L., Oliphant, M.S. y Iverson, Z.L. (1971). Food habits of albacore bluefins, tuna and bonito in California waters. *Fish Bulletin*, 152, 1-105.
- Pitol, D. L., Issa, J. P. M., Caetano, F. H. y Lunardi, L. O. (2007). Morphological characterization of the leukocytes in circulating blood of the turtle (*Phrynops hilarii*). *International Journal of Morphology*, 25(4), 677-682.
- Pitol, D. L., Issa, J. P. M., Caetano, F. H. y Lunardi, L. O. (2008). Radioautographic study of the seasonal distribution of leukocytes in turtles *Phrynops hilarii* (Chelonia Chelidae). *Micron*, 39(8), 1381-1386.
- Plummer, M. V., Kremetz, D. G., Powell, L. A. y Mills, N. E. (2008). Effects of habitat disturbance on survival rates of softshell turtles (*Apalone spinifera*) in an urban stream. *Journal of Herpetology*, 42(3), 555-563.
- Poletta, G. L., Siroski, P. A., Amavet, P. S., Ortega, H. H. y Mudry, M. D. (2013). Reptiles as animal models: examples of their utility in genetics, immunology and toxicology. En W. Lutterschmidt (Ed.), *Reptiles in Research: Investigations of Ecology, Physiology and Behavior from Desert to Sea* (pp. 407-445). Nova Science Publishers.

- Polo-Cavia, N., Engstrom, T., López, P. y Martín, J. (2010). Body condition does not predict immunocompetence of western pond turtles in altered versus natural habitats. *Animal Conservation*, 13(3), 256-264.
- Pough, F. H., Andrews, R. M., Cadle, J. E., Crump, M. L., Savitzky, A. H. y Wells, K. D. (1998). Herpetology. Prentice-Hall.
- Prado, W. S., Waller, T., Albareda, D. A., Cabrera, M. R., Etchepare, E., Giraudo, A. R., González Carman, V., Prosdocimi, L. y Richard, E. (2012). Categorización del estado de conservación de las tortugas de la República Argentina. *Cuadernos de herpetología*, 26, 375-387.
- Prieto, Y., Bernardi, C. G., Rozycki, V. R. y Manzano, A. S. (2019). Chemical Composition of the Eggs of the Freshwater Turtle *Phrynops hilarii* (Chelidae: Testudines). *Herpetological Conservation and Biology*, 14(2), 393-401.
- Rangel-Mendoza, J., Weber, M., Zenteno-Ruiz, C. E., López-Luna, M. A. y Barba-Macías, E. (2009). Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. *Research in veterinary science*, 87(2), 313-318.
- Rees, M., Roe, J. H. y Georges, A. (2009). Life in the suburbs: behavior and survival of a freshwater turtle in response to drought and urbanization. *Biological Conservation*, 142(12), 3172-3181.
- Reid, B. N. y Peery, M. Z. (2014). Land use patterns skew sex ratios, decrease genetic diversity and trump the effects of recent climate change in an endangered turtle. *Diversity and Distributions*, 20(12), 1425-1437.
- Remes Lenicov, M., Colautti, D. C. y López, H. L. (2005). Ictiofauna de un ambiente lótico suburbano: el arroyo Rodríguez (Buenos Aires, Argentina). *Biología Acuática*, 22, 223-230.
- Rhodin, A. G. K., Iverson, J. B., Bour, R., Fritz, U., Georges, A. y Shaffer, H. B. (2021). Turtles of the World: Annotated Checklist and Atlas of Taxonomy, Synonymy, Distribution, and Conservation Status (9a. Ed.). En A. Rhodin, J. Iverson, P. van Dijk, C. Stanford, E. Goode, K. Buhlmann y R. Mittermeier (Eds.), *Conservation Biology of Freshwater*

- Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. Chelonian Research Monographs* (Vol. 8, pp. 1-472). Chelonian Research Foundation and Turtle Conservancy.
- Ribas, E. R. y Monteiro-Filho, E. L. A. (2002). Distribuição e habitat das tartarugas de água doce (Testudines, Chelidae) do Estado do Paraná, Brasil. *Biociências*, 10(2), 15-32.
- Richard, E. (1999). *Tortugas de las regiones áridas de Argentina*. L.O.L.A..
- Rimoldi, F., Peluso, L., Rossini, G. B., Ronco, A. E. y Demetrio, P. M. (2018). Multidisciplinary approach to a study of water and bottom sediment quality of streams associated with mixed land uses: Case study Del Gato Stream, La Plata (Argentina). *Ecological indicators*, 89, 188-198.
- Rodrigues, J., Soares, D. y Silva, J. (2014). Sexing freshwater turtles: penile eversion in *Phrynops tuberosus* (Testudines: Chelidae). *Acta Herpetologica*, 9(2), 259-263.
- Rodrigues, J. F. M. y Silva, J. R. F. (2015). Sexual dimorphism, deformations, and epibionts of *Phrynops tuberosus* (Testudines, Chelidae). *Animal Biology*, 65(3-4), 311-320.
- Rodrigues Capítulo, A., Tangorra, M. y Ocón, C. (2001). Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. *Aquatic ecology*, 35(2), 109-119.
- Rodrigues Capítulo, A., Ocon, C. S. y Tangorra, M. (2004). Una visión bentónica de arroyos y ríos pampeanos. *Biología Acuática*, 21.
- Rodrigues Capítulo, A., Armendáriz, L. C., Siri, A., Altieri, P. D., Ocon, C. S., Cortese, B., Rodríguez Catanzaro, L., Zanotto Arpellino, J. P., Rodríguez, M. y Donato, M. H. (2020). Caracterización estructural y funcional de los macroinvertebrados en los bañados de desborde fluvial del área pampeana. *Biología Acuática*, 35.
- Rodrigues Capítulo, L., Kruse, E. y Gómez, N. (2020). Los bañados de desborde fluvial: una mirada desde la geohidrología. *Biología Acuática*, 35.
- Rodríguez, M. I., Cossavella, A., Oroná, C., del Olmo, S., Larrosa, N., Rodríguez, A., ... y Martínez, M. (2000). *Estudios preliminares de la calidad de agua y sedimentos del embalse San Roque relacionados al proceso de eutroficación*. XVIII Congreso Nacional del Agua, Santiago del Estero, Argentina.

- Rodríguez, M. I., Ruiz, M., Vilchez, G., Crema, N., Ruibal Conti, A. L., Bustamante, M. A., Angelaccio, C. M., Busso, F., Bonfati, E. y López, F. (2006). *Monitoreo integral de un cuerpo de agua eutrófico Embalse San Roque (Córdoba, Argentina)*. I Congreso Internacional sobre Gestión y Tratamiento Integral del Agua, Córdoba, Argentina.
- Rodríguez, C. E., Duque, A. M. H., Steinberg, J. y Woodburn, D. B. (2018). Chelonia. En K. Terio, D. McAloose y J. St. Leger (Eds.), *Pathology of wildlife and zoo animals* (pp. 825-854). Academic Press.
- Roe, J. H., Rees, M. y Georges, A. (2011). Suburbs: dangers or drought refugia for freshwater turtle populations? *The Journal of Wildlife Management*, 75(7), 1544-1552.
- Romanazzi, P. G. y Urbiztondo, A. J. (2011). *Estudios hidrológicos-hidráulicos-ambientales en la cuenca del Arroyo del Gato*. Primeras Jornadas de Investigación y Transferencia., Facultad de Ingeniería de La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Ronco, A., Camilión, C. y Manassero, M. (2001). Geochemistry of heavy metals in bottom sediments from streams of the western coast of the Río de la Plata estuary, Argentina. *Environmental Geochemistry and Health*, 23(2), 89-103.
- Ronco, A., Camilión, C. y Manassero, M. (2007). Metal occurrence and textural-compositional properties in bottom sediments from right margin tributaries of the lower del Plata basin. *Latin American journal of sedimentology and basin analysis*, 14(1), 43-51.
- Rosenfeld, G. (1947). Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes de May-Grunwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Memórias do Instituto Butantan*, 20, 329-335.
- Rossini, M., Blanco, P. A., Marín, E., Comerma-Steffensen, S. y Zerpa, H. (2012). Haematological values of post-laying Arrau turtle (*Podocnemis expansa*) in the Orinoco River, Venezuela. *Research in veterinary science*, 92(1), 128-131.
- Roskopf Jr, W. J. y Shindo, M. K. (2003). Syndromes and conditions of commonly kept tortoise and turtle species. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 12(3), 149-161.

- Ryan, T. J. y Lambert, A. (2005). Prevalence and colonization of *Placobdella* on two species of freshwater turtles (*Graptemys geographica* and *Sternotherus odoratus*). *Journal of Herpetology*, 39(2), 284-287.
- Saibene, P. E., Cajade, R., Pagano, L. G. y Herrera, R. (2012). Reptiles de la Reserva Natural Punta Lara. En I. Roesler y M. Agostini (Eds.), *Inventario de los Vertebrados de la Reserva Natural Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, Argentina* (pp. 83-96). Aves Argentinas.
- Sánchez, R. M., Semeñiuk, M. B., Cassano, M. J., Alcalde, L., Leynaud, G. C. y Moreno, L. (2019). Review of chelid and emydid turtle distributions in southern South America with emphasis on extralimital populations and new records for Argentina. *Herpetological Journal*, 29(4).
- Sánchez, R. M., Semeñiuk, M. B., Cassano, M. J. y Alcalde, L. (2021). Diet variation of the South American snake-necked turtle (*Hydromedusa tectifera*) from two different urban neighboring streams. *North-Western Journal of Zoology*, 17(2), 212-219.
- Sansiñena, J. A., Peluso, L., Costa, C. S., Demetrio, P. M., Mac Loughlin, T. M., Marino, D. J., Alcalde, L. y Natale, G. S. (2018). Evaluation of the toxicity of the sediments from an agroecosystem to two native species, *Hyaella curvispina* (CRUSTACEA: AMPHIPODA) and *Boana pulchella* (AMPHIBIA: ANURA), as potential environmental indicators. *Ecological Indicators*, 93, 100-110.
- Santori, C., Spencer, R. J., Thompson, M. B., Whittington, C. M., Burd, T. H., Currie, S. B., Finter, T. J. y Van Dyke, J. U. (2020). Scavenging by threatened turtles regulates freshwater ecosystem health during fish kills. *Scientific Reports*, 10(1), 1-7.
- Saumure, R. A. y Bider, J. R. (1998). Impact of agricultural development on a population of wood turtles (*Clemmys insculpta*) in southern Quebec, Canada. *Chelonian Conservation and Biology*, 3, 37-45.
- Scheelings, T. F. y Rafferty, A. R. (2012). Hematologic and serum biochemical values of gravid freshwater Australian chelonians. *Journal of Wildlife Diseases*, 48(2), 314-321.

- Schulte-Hostedde, A. I., Zinner, B., Millar, J. S. y Hickling, G. J. (2005). Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. *Ecology*, *86*(1), 155-163.
- Schwanz, L. E., Spencer, R. J., Bowden, R. M. y Janzen, F. J. (2010). Climate and predation dominate juvenile and adult recruitment in a turtle with temperature-dependent sex determination. *Ecology*, *91*(10), 3016-3026.
- Seebacher, F. (1999). Behavioural postures and the rate of body temperature change in wild freshwater crocodiles, *Crocodylus johnstoni*. *Physiological and Biochemical Zoology*, *72*(1), 57-63.
- Seixas, S. A., Amato, J. F. R., Amato, S. B. y Mascarenhas, C. S. (2014). First report of *Temnocephala pereirai* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) on *Trachemys dorbignii* (Emydidae) from southern Brazil- A complete morphological study. *Neotropical Helminthology*, *8*(1), 23-35.
- Selman, W. y Qualls, C. P. (2011). Basking ecology of the yellow-blotched sawback (*Graptemys flavimaculata*), an imperiled turtle species of the Pascagoula River system, Mississippi, United States. *Chelonian Conservation and Biology*, *10*(2), 188-197.
- Selman, W., Qualls, C. y Owen, J. C. (2013). Effects of human disturbance on the behavior and physiology of an imperiled freshwater turtle. *The Journal of Wildlife Management*, *77*(5), 877-885.
- Semeñiuk, M. B. y Alcalde, L. (2017). Seasonal activity and basking of the southernmost population of the freshwater turtle *Phrynops hilarii* (Chelidae). *Amphibia-Reptilia*, *38*(2), 125-132.
- Semeñiuk, M. B., Alcalde, L., Sánchez, R. M. y Cassano, M. J. (2017). An easy, cheap, and versatile method to trap turtles, with calibrated sampling effort. *South American Journal of Herpetology*, *12*(2), 107-116.
- Semeñiuk, M. B., Sánchez, R. M., Cassano, M. J., Palumbo, E. y Alcalde, L. (2019). Abundance and population structure of *Hydromedusa tectifera* Cope 1869 in a highly anthropogenic environment in Argentina. *Chelonian Conservation and Biology*, *18*(1), 24-31.
- Semir, J., Sazima, I. y Sazima, M. (1988). *Basicladia chelonum*, alga epizoária em casco de tartarugas de água doce, no sudeste brasileiro. *Ciência e Cultura*, *40*(9), 885-888.

- Sierra, M. V., Gómez, N., Marano, A. V. y Di Siervi, M. A. (2013). Caracterización funcional y estructural del biofilm epipélico en relación al aumento de la urbanización en un arroyo de la Llanura Pampeana (Argentina). *Ecología Austral*, 23(2), 108-118.
- Silva, M. I. A., Venancio, L. P. R., Maschio, L. R., Zago, C. E. S., Azeredo-Oliveira, M. T. V. y Bonini-Domingos, C. R. (2008). Análise de genotoxicidade e mutagenicidade em eritrócitos de Cágado-de-barbelas (*Phrynops geoffroanus*-TESTUDINES: CHELIDAE) por meio do teste do Cometa. *Holos Environment*, 8(2).
- Smith, E. N. (1979). Behavioral and physiological thermoregulation of crocodylians. *American Zoologist*, 19(1), 239-247.
- Smith, G. R. y Iverson, J. B. (2002). Sex Ratio of Common Musk Turtles (*Sternotherus odoratus*) in a North-Central Indiana Lake: a Long-Term Study. *The American Midland Naturalist*, 148(1), 185-189.
- Soares, J. F., Oliveira, C. B., Silva, A. S. D., Souza, C. P. y Monteiro, S. G. (2007). Temnocefalídeo em tartaruga de água doce, *Hydromedusa tectifera*, da região central do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, 37, 901-903.
- Solis, M., Mugni, H., Fanelli, S. y Bonetto, C. (2017). Effect of agrochemicals on macroinvertebrate assemblages in Pampasic streams, Buenos Aires, Argentina. *Environmental Earth Sciences*, 76(4), 1-13.
- Soltanian, S. (2016). Effect of atrazine on immunocompetence of red-eared slider turtle (*Trachemys scripta*). *Journal of immunotoxicology*, 13(6), 804-809.
- Souza, F. L. (2004). Uma revisão sobre padrões de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines, Chelidae). *Phyllomedusa*, 3(1), 15-27.
- Souza, F. L. (2005). Geographical distribution patterns of South American side-necked turtles (Chelidae), with emphasis on Brazilian species. *Revista Española de Herpetología*, 19(1), 33-46.
- Souza, F. L. y Abe, A. S. (2000). Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. *Journal of Zoology*, 252(4), 437-446.

- Souza, F. L. y Martins, F. I. (2006). Body temperature of free-living freshwater turtles, *Hydromedusa maximiliani* (Testudines, Chelidae). *Amphibia-Reptilia*, 27(3), 464-468.
- Souza, F. L., Raizer, J., Da Costa, H. T. M. y Martins, F. I. (2008). Dispersal of *Phrynops geoffroanus* (Chelidae) in an urban river in central Brazil. *Chelonian Conservation and Biology*, 7(2), 257-261.
- Spotila, J. R. y Gates, D. M. (1975). Body size, insulation, and optimum body temperatures of homeotherms. En S. Taylor (Ed.), *Perspectives of Biophysical Ecology* (pp. 291-301). Springer.
- Stacy, N. I., Alleman, A. R. y Sayler, K. A. (2011). Diagnostic hematology of reptiles. *Clinics in laboratory medicine*, 31(1), 87-108.
- Stanford, C. B., Iverson, J. B., Rhodin, A. G., van Dijk, P. P., Mittermeier, R. A., Kuchling, G., ... y Walde, A. D. (2020). Turtles and tortoises are in trouble. *Current Biology*, 30(12), R721-R735.
- Steen, D. A., Aresco, M. J., Beilke, S. G., Compton, B. W., Condon, E. P., Kenneth Dodd Jr, C., ... y Gibbs, J. P. (2006). Relative vulnerability of female turtles to road mortality. *Animal Conservation*, 9(3), 269-273.
- Steen, D. A., Gibbs, J. P., Buhlmann, K. A., Carr, J. L., Compton, B. W., Congdon, J. D., ... y Wilson, D. S. (2012). Terrestrial habitat requirements of nesting freshwater turtles. *Biological Conservation*, 150(1), 121-128.
- Stein, I. V., Stein, G. G., Hlavac, N. R. C., de Almeida Lacerda, L. y Caríssimi, A. S. (2015). Perfil hematológico de tigras d'água (*Trachemys dorbigni*) de uma população do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Veterinária em Foco*, 12(2), 119-127.
- Sterrett, S. C., Maerz, J. C. y Katz, R. A. (2015). What can turtles teach us about the theory of ecological stoichiometry? *Freshwater Biology*, 60(3), 443-455.
- Strik, N. I., Alleman, R. y Harr, K. E. (2007). Circulating inflammatory cells. En E. Jacobson (Ed.), *Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text* (pp. 167-218). CRC Press.
- Swimmer, J. Y. (2006). Relationship between basking and fibropapillomatosis in captive green turtles (*Chelonia mydas*). *Chelonian Conservation and Biology*, 5(2), 305-309.

- Sykes, J. M. y Klaphake, E. (2008). Reptile Hematology. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 11(3), 481-500.
- Subsecretaría de Recursos Hídricos (2004). *Estadística hidrológica de la República Argentina*. EVARSA.
- Tavares-Dias, M., Oliveira-Junior, A. A., Silva, M. G., Marcon, J. L. y Barcellos, J. F. (2009). Comparative hematological and biochemical analysis of giant turtles from the Amazon farmed in poor and normal nutritional conditions. *Veterinarski Arhiv*, 79(6), 601-610.
- Takenaka, T. y Hasegawa, M. (2001). Female-biased mortality and its consequence on adult sex ratio in the freshwater turtle *Chinemys reevesii* on an island. *Current Herpetology*, 20(1), 11-17.
- Thépot, D. (2021). Sex Chromosomes and Master Sex-Determining Genes in Turtles and Other Reptiles. *Genes*, 12(11), 1822.
- Tortato, M. A. (2007). Contribuição ao conhecimento de *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines, Chelidae) em área de restinga no estado de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Biotemas*, 20(1), 119-122.
- Tosunoglu, M., Yilmaz, N. y Gul, C. (2011). Effects of Varying Ecological Conditions on the Blood Parameters of Freshwater Turtles in Canakkale (Turkey). *Ekoloji*, 20(78), 7-12.
- Tracchia, A. C. (2018). *Medicina en quelonios y otros reptiles*. Fundación Azara.
- Troiano, J. C. y Silva, M. C. (1998). Valores hematológicos de referencia en tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*). *Analecta Veterinaria*, 18(1-2), 47-51.
- Urbina-Cardona, J. N., Bernal, E. A., Giraldo-Echeverry, N. y Echeverry-Alcendra, A. (2015). El monitoreo de herpetofauna en los procesos de restauración ecológica: indicadores y métodos. En M. Aguilar-Garavito y W. Ramírez (Eds.), *Monitoreo a procesos de restauración ecológica, aplicado a ecosistemas terrestres* (pp. 134-147). Alexander von Humboldt.
- Valenzuela, N. y Lance, V. (2004). *Temperature-dependent sex determination in vertebrates*. Smithsonian Books.

- Vandewalle, T. J. y Christiansen, J. L. (1996). A relationship between river modification and species richness of freshwater turtles in Iowa. *Journal of the Iowa Academy of Science*, 103(1-2), 1-8.
- Vanek, J. P. y Glowacki, G. A. (2019). Assessing the impacts of urbanization on sex ratios of painted turtles (*Chrysemys picta*). *Diversity*, 11(5), 72.
- Vaz-Ferreira Raimondi, R. y Sierra, B. (1960). Notas sobre reptiles del Uruguay. *Revista de la Facultad de Humanidades y Ciencias*, 18, 133–206.
- Vázquez, J. B., Miatello, R. y Roqué, M. (1979). *Geografía física de la Provincia de Córdoba*. Boldt.
- Venancio, L. P. R., Silva, M. I. A., da Silva, T. L., Moschetta, V. A. G., de Campos Zuccari, D. A. P., Almeida, E. A. y Bonini-Domingos, C. R. (2013). Pollution-induced metabolic responses in hypoxia-tolerant freshwater turtles. *Ecotoxicology and environmental safety*, 97, 1-9.
- Viana, P. F., Feldberg, E., Takagui, F. H., Menezes, S., Vogt, R. C. y Ezaz, T. (2022). Matamatas *Chelus* spp. (Testudines, Chelidae) have a remarkable evolutionary history of sex chromosomes with a long-term stable XY microchromosome system. *Scientific Reports*, 12(1), 1-13.
- Wahl, M. (1989). Marine epibiosis. I. Fouling and antifouling: some basic aspects. *Marine ecology progress series*, 58, 175-189.
- Wahl, M. y Mark, O. (1999). The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental and observational evidence. *Marine Ecology Progress Series*, 187, 59-66.
- Wallach, J. D. (1975). The pathogenesis and etiology of ulcerative shell disease in turtles. *The Journal of Zoo Animal Medicine*, 6(1), 11-13.
- Webb, G. J. (1978). Observations on basking in some Australian turtles (Reptilia: Testudines: Chelidae). *Herpetologica*, 34(1), 39-42.
- Willingham, E. y Crews, D. (1999). Sex reversal effects of environmentally relevant xenobiotic concentrations on the red-eared slider turtle, a species with temperature-dependent sex determination. *General and Comparative Endocrinology*, 113(3), 429-435.

- Wolff, B. 2002. Haltung und Nachzucht der Argentinischen Schlangenhalschildkröte *Hydro-medusa tectifera* (Cope, 1869). *Elaphe*, 10, 31-36.
- Woodburn, D. B., Miller, A. N., Allender, M. C., Maddox, C. W. y Terio, K. A. (2019). *Emydomyces testavorans*, a new genus and species of onygenalean fungus isolated from shell lesions of freshwater aquatic turtles. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(2), 1-11.
- Woodburn, D. B., Kinsel, M. J., Poll, C. P., Langan, J. N., Haman, K., Gamble, K. C., Maddox, C., Jeon, A. B., Wellehan, J. F. X., Ossiboff, R. J., Allender, M. C. y Terio, K. A. (2021). Shell lesions associated with *Emydomyces testavorans* infection in freshwater aquatic turtles. *Veterinary pathology*, 58(3), 578-586.
- Wu, S. C. y Bergey, E. A. (2017). Diatoms on the carapace of common snapping turtles: *Lucicola* spp. dominate despite spatial variation in assemblages. *PloS one*, 12(2), 1-11.
- Wunderlin, D. A. (2018). *The Suquia River Basin (Córdoba, Argentina): An Integrated study on its hydrology, pollution, effects on native biota and models to evaluate changes in water quality*. (Vol. 62). Springer.
- Yrigoyen, M. R. (1975). Geología del subsuelo y plataforma continental. *Relatorio VI Congreso Geológico Argentino*, 139-168.
- Yu, S., Halbrook, R. S., Sparling, D. W. y Colombo, R. (2011). Metal accumulation and evaluation of effects in a freshwater turtle. *Ecotoxicology*, 20(8), 1801-1812.
- Yu, S., Halbrook, R. S. y Sparling, D. W. (2012). Accumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) and evaluation of hematological and immunological effects of PCB exposure on turtles. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 88(6), 823-827.
- Zago, C. E. S., Da Silva, T. L., Da Silva, M. I. A., Venancio, L. P. R., Mendonça, P. P., Junior, L. R. F., Vizotto, L. D., Taboga, S. R., Bonini-Domingos, C. R., de Azeredo-Oliveira, M. T. V. y de Oliveira, C. (2010a). Morphological, morphometrical and ultrastructural characterization of *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae) blood cells, in different environments. *Micron*, 41(8), 1005-1010.
- Zago, C., Ferrarezi, A. L., Vizotto, L. D., Oliveira, C., Cabral, S., Taboga, S. R., Bonilla-Rodriguez, G. O., Venancio, L. P. R. y Bonini-Domingos, C. R. (2010b). Hemoglobin

polymorphism and hematological profile of Geoffroy's side-necked turtle (*Phrynops geoffroanus*, Testudines) in the northwestern region of São Paulo State, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 9(2), 721-726.

Zug, G. R., Vitt, L. y Caldwell, J. P. (2001). *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic press.