

***Caiman latirostris* (yacaré overo):
Análisis de la microbiota del
material de nido
y
su influencia en las condiciones
de incubación**

Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales

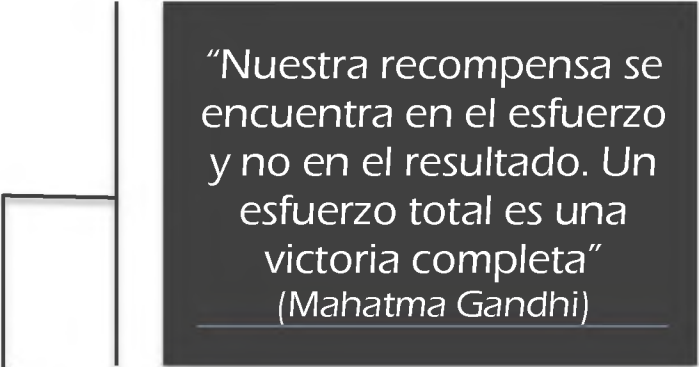
Licenciada Noelia Nuñez Otaño

Directora: Dra. Angélica M. Arambarri

Co-Director: Dr. Carlos I. Piña

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

2012



“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa”
(Mahatma Gandhi)

"Acá estoy entre nerviosa y tranquila entre loca y calma,
que se yo no puedo decir como me siento,
solo quiero que llegue el día".

Cleo (Vasca),

Tus -hacia mí- Ultimas Palabras
escritas...

Tus -estas- Palabras son hoy, Mis
Palabras...

Esto te quiero contar y llego este día...
"Acá Estoy..."

Ya llegará ese "otro día" donde te
vuelva a ENCONTRAR.

GRACIAS INFINITAS POR TODO...

POR UN TODO INCUANTIFICABLE.

Noe

INDICE

Resumen	1
Abstract	3
INTRODUCCIÓN GENERAL	5
Antecedentes	5
Descripción de las entidades biológicas estudiadas	7
Microhongos: Nociones generales y particulares	7
Caracterización del Phylum	9
Generalidades, Metabolismo y Estructura Fúngica	11
<i>Caiman latirostris</i> , Daudin 1982 (Yacaré Overo).....	12
Hipótesis.....	16
Objetivos	17
General.....	17
Específicos	18
CAPÍTULO 1 “Composición florística de los ambientes de nidificación de <i>Caiman latirostris</i>”	
1.1 Antecedentes	20
1.1.1 La vegetación por regiones: Generalidades sobre el Enfoque Ecorregional	22
1.1.2 La Provincia de Santa Fe y sus Ecorregiones	22
Ecorregión Del Espinal	24
Ecorregión Delta e Islas del Paraná	26
Ecorregión Chaco Húmedo.....	28
1.1.3 Hábitats de nidificación de <i>Caiman latirostris</i>	29
1.2 Objetivos	31
1.3 Metodología	31
1.4 Resultados	33
Análisis cuali-cuantitativos de los censos florísticos en la Reserva de Uso Múltiple “El Estero”	35
Análisis cuali-cuantitativos de los censos florísticos en el campo “El Cacique”	38
Análisis cuali-cuantitativos de los censos florísticos en “Los Saladillos”	40
1.5 Discusión.....	41
ANEXOS - CAPÍTULO 1	46

Tablas	47
Imágenes de los ambientes censados.....	66
CAPITULO 2	
Capítulo 2.1 “Caracterización florística de los nidos de <i>Caiman latirostris</i>”	70
2.1.1 Antecedentes	70
2.1.2 Objetivos	71
2.1.3 Materiales y Métodos	72
2.1.4 Resultados	74
Nidos de Monte (Isletas de Bosque RIII/Espinillar RIII).....	74
Nidos de Sabana (Praderas RIII/Abras RI)	75
Nidos de Embalsado	76
Capítulo 2.2 “Composición micobiótica de los nidos de <i>Caiman latirostris</i>”	80
2.2.1 Antecedentes	80
Limitaciones en el Estudio de los Hongos	83
Antecedentes de la interacción microhongos y reptiles.....	84
2.2.2 Objetivos	86
2.2.3 Materiales y Métodos	86
2.2.4 Resultados	92
Diversidad Alfa	92
Diversidad Beta	96
2.2.5 Discusión	99
Diversidad Beta temporal y espacial.....	106
ANEXOS – CAPÍTULO 2.2	110
Tabla general.....	111
Imágenes Especies Fúngicas.....	115
CAPITULO 3	
Capítulo 3.1 “Micobiota en cloacas de hembras de <i>Caiman latirostris</i> y su relación con el Índice Corporal de los individuos”	119
3.1.1 Antecedentes	119
3.1.2 Objetivos	120
3.1.3 Materiales y Métodos	120
3.1.4 Resultados	124

3.1.5 Discusión	127
Capítulo 3.2 “Microhongos filamentosos en cáscaras y membranas de huevos de <i>Caiman latirostris</i>”	130
3.2.1 Antecedentes	130
3.2.2 Objetivos	132
3.2.3 Materiales y métodos.....	132
3.2.4 Resultados	134
Generales	134
En cáscaras de los huevos	136
En las membranas de los huevos	137
3.2.5 Discusión	139
Géneros y Especies Fúngicas	142
ANEXO – CAPÍTULO 3.2.....	145
CAPITULO 4 “Efecto de las esporas de <i>Aspergillus fumigatus</i> y <i>Fusarium oxysporum</i> en la incubación de huevos de <i>Caiman latirostris</i>”	149
4.1 Antecedentes	149
4.2 Objetivos	151
4.3 Materiales y métodos.....	151
4.4 Resultados	157
4.5 Discusión	159
ANEXO – CAPÍTULO 4	163
5. CONCLUSIONES	
Capítulo 1	167
Capítulo 2	168
Capítulo 3	169
Capítulo 4	170
Generales.....	171
6. Propuesta para estudios futuros	172
7. BIBLIOGRAFÍA	173
8. AGRADECIMIENTOS	201

RESUMEN

En esta tesis se determinó y detalló la diversidad de microhongos que se establecen en el material de nido de *Caiman latirostris* con la intención de analizar si la composición fúngica encuentra variación según el ambiente de nidificación (según se hayan construidos en la unidad de Monte, Sabana o Embalsado) y si la presencia de hongos patógenos pueden tener alguna influencia sobre el éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos. Esta contribución constituye el primer estudio de esta índole realizados en caimanes en general y en yacaré overo en particular. En primera instancia, para cumplir con el objetivo de caracterizar las comunidades fúngicas de los nidos, fue necesario brindar una caracterización florística de los hábitat naturales de *C. latirostris* y de la flora circundante a los nidos en un radio aproximado de tres metros. Debido a que el material de nido se encuentra reducido a restos de vegetales prácticamente indeterminables, la información generada sobre la flora de cada ambiente de nidificación es de utilidad a la hora de interpretar las preferencias de ciertos hongos por un sustrato (plantas leñosas o herbáceas y/o géneros o especies). Se actualizó la información sobre la diversidad florística del área de estudio y se definieron los distintos ambientes de nidificación en un contexto fitogeográfico. Este estudio constituye el primer aporte sobre la diversidad de la micobiota en ambientes naturales de la provincia de Santa Fe. Se observó que la heterogeneidad ambiental influye sobre la composición de los ensamblajes fúngicos y uno de los factores que afectan podría ser el cambio en la intensidad de los factores climáticos. Además, el agrupamiento de los ensamblajes fúngicos según el tipo de hábitat demuestra que la diversidad taxonómica y la variedad estructural de los taxones de plantas influyen sobre la diversidad de hongos de cada ambiente. Respecto a la interacción hongo/caimán se identificaron especies fúngicas en la cloaca de hembras en época de postura, en cáscara y membrana de huevos de yacaré overo. De estos resultados se concluyó que las hembras actúan como transportadores facultativos de hongos en sus cloacas y no todos los hongos

de cloaca se encuentran en los huevos. Asimismo, no todos los hongos de los huevos provienen de la cloaca. También se observó que la cáscara actúa como barrera de las esporas fúngicas permitiendo el paso de las mismas hacia la membrana por filtración. De los resultados obtenidos y de las listas de especies de hongos formuladas, se identificaron aquellas con potencial patógeno para el yacaré overo, con base en los antecedentes disponibles en otras especies de reptiles (lagartos y tortugas). Además se consideraron dos especies (*Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum*), cuya patogenicidad fue testada en otras contribuciones en diferentes especies de reptiles, para realizar ensayos inoculando huevos de yacaré e incubándolos en condiciones controladas. Estas especies fúngicas, fueron identificadas en el material de nido y/o sobre las muestras de membranas de algunos de los huevos analizados. A partir del aislamiento puro de esas especies se preparó un ensayo de patogenicidad (en condiciones controladas de humedad, temperatura y esterilidad de los sustratos utilizados para la incubación) para evaluar si esos hongos tenían algún efecto sobre el éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos de *C. latirostris*. De las experiencias realizadas se comprobó que el tratamiento de dispersión de esporas sobre los huevos no tuvo ningún efecto negativo sobre las variables consideradas, debido a que, las esporas no pudieron obtener el sustrato orgánico necesario para el desarrollo de hifas. Además se concluyó que son necesarias otras condiciones (e.g. materia orgánica procedente de los huevos en proceso de descomposición), a parte de las que brindan el microambiente de la cámara de los huevos, para que el hongo se desarrolle y provoque algún efecto.

ABSTRACT

The diversity of micro fungi which was found in the material of the *Caiman Latirostris* nest is determined and in detail in this thesis. The intention is to analyze if the fungal composition changes according to the environment of the nesting- depending if they were built in the bushes, savannah or floating vegetation. Also, if the presence of pathogens fungi could have any influence on the moment of hatching, the sanity of the eggs and the size of the hatchlings. This contribution is the first of this kind made in alligators and particularly on broad-snouted caiman. In the first place, in order to characterize the fungal community of the nest, it was necessary to do a floral characterization of natural environments and the flora of the nesting habitat of *Caiman latirostris* which surround these nest in a radius of three meters approximately. Since the material of the nests is made of organic remains which are almost impossible to recognize, the information that brings the flora in any of these environments is helpful to interpret the preferences of some fungus for a substratum (woody or herbaceous plants and/or genera or species). As a consequence, the information about the flora of the study area was updated and the different environments of nesting were defined in a fitogeographic context. This study is also the first contribution about the diversity of micobiota in the natural environment of Santa Fe province. It was observed that environmental heterogeneity influences the composition of fungal assemblies, and one of the factors that could affect is the change of climatic factor intensity. In addition, the grouping of fungal assemblages by habitat type shows that taxonomic and structural diversity of plant taxa leftover influence fungal diversity of each environment. As regard to the fungi/alligator interaction, different fungal species were found on the female cloaca at reproductive stage, the shells and membranes of the broad-snouted caiman 's eggs. From these results it was concluded that females act as facultative carriers of fungal spores in their cloaca. Not all fungi found in the cloaca were found on eggs and not all fungi identified on eggs came from the cloaca. It was also observed that shells act as a fungal barrier allowed the

spore passage towards the membrane by filtration down the shell pores. From the previous results and the list of different species of fungi formulated, the ones with the pathogenic potential for the caiman were identified, using as a basis the data available from other reptiles like lizards and turtles. Moreover, two species were considered (*Aspergillus fumigatus* and *Fusarium oxysporum*), which negative effects were tested in another contribution in different reptiles species, to do some tests in which the broad-snouted caiman's eggs were incubated under controlled conditions. Also, these fungal species were identified in the nest material and on the samples of the membranes of some of the eggs analyzed. Since the isolation of those species, a pathogenicity assay was done, in which the humidity, temperature and the sterility of the samples were under control, to evaluate if these fungus have a negative impact on the hatching success, sanity of the eggs and size of the hatchlings of *C. latirostris*. From these experiences, the presences of spores on the eggs have no negative effect on what was considered. In addition, it was concluded that other conditions are necessary (i.e. organic material from the eggs in decomposition), apart from the ones that have been brought from the microenvironment of the chamber's egg for the fungus to develop and have an effect.

“Composición micobiótica del material de nido y su influencia en las condiciones de incubación de *Caiman latirostris* (yacaré overo)”

Introducción General

ANTECEDENTES

La mayoría de los hongos poseen diferentes capacidades en relación a su nutrición, por esta razón son de gran importancia en los ecosistemas y a menudo son una unión esencial entre los organismos y sus niveles tróficos mediante complejas y variadas interacciones con los animales y plantas. Su principal rol ecológico es la descomposición de sustratos ya que los hongos necesitan compuestos orgánicos preformados como fuente de energía. Debido a sus capacidades enzimáticas pueden utilizar los más diversos compuestos orgánicos incluidos la celulosa y la lignina (PIONTELLI LAFORET 2007). Los hongos son organismos ubicuos y pueden crecer en prácticamente todos los ambientes; otros pueden vivir en ambientes con inundaciones periódicas (ANDO 1992). Un amplio rango de hongos esporulan con un adecuado régimen de precipitaciones (SHEARER 1993) y otros donde la disponibilidad de agua es escasa y afecta el índice de descomposición (DIX Y WEBSTER 1995). Para la mayoría de los hongos una temperatura de 15 °C a 20 °C permite una mejor esporulación y crecimiento. El conjunto de estas variables determinan el éxito de colonización, supervivencia de los individuos y la composición de especies de la micobiota de cada lugar (CANNON Y SUTTON 2004).

Los animales ectotermos seleccionan sus hábitats según sus necesidades de termorregulación (PIÑA 2002, MERCHANT ET AL. 2007). El éxito de los mismos depende de la interacción de los componentes que forman dicho hábitat. Los componentes son diversos y dentro de ellos podemos considerar la micobiota asociada a los nidos. Estudios previos realizados en aves y reptiles han

documentado la interacción de factores bióticos (e.g., distintos organismos y su interacción) y abióticos (e.g., rango de temperatura, nivel de pH, gases disueltos, tipos de suelo, etc.) del microambiente del nido que afectan el desarrollo de los embriones (RAHN Y PAGANELLI 1990, PIÑA ET AL. 2003, PIÑA ET AL. 2007). A su vez estudios realizados con tortugas de mar revelaron que el microambiente de los huevos en los nidos es afectado temporal y espacialmente por variables bióticas (microorganismos y predadores) y abióticos (características de la arena, contenido de gases, humedad y temperatura), estos factores pueden interactuar entre ellos de manera no lineal (PACKARD Y PACKARD 1988, ACKERMAN 1997). Los hongos usan el oxígeno disponible, incrementan su metabolismo y esto propicia un aumento en la temperatura del lugar en el que se encuentran (GRIFFIN 1996); recientemente se ha demostrado que la concentración de O₂ afecta el desarrollo del yacaré overo (IUNGMAN 2012). VALVERDE ET AL. (1998) proponen que la actividad metabólica asociada con una alta densidad de embriones en desarrollo sumada a la composición microbiana de la materia orgánica acumulada disminuye el nivel de oxígeno (aumentando el nivel de dióxido de carbono) y afecta el desarrollo normal de los embriones.

En los distintos sitios de nidificación, el aumento en la cantidad de materia orgánica podría incrementar la respiración microbiana como también la posibilidad de infección bacteriana y fúngica de los huevos. PHILLOTT Y PARMENTER (2001a) mostraron que la mortalidad incidente de huevos en los nidos podría causar la colonización de los huevos por parte de hongos y posterior invasión hacia los huevos adyacentes. Actualmente se pueden encontrar investigaciones en las que se analizan las condiciones microambientales del nido y su relación con las variables éxito de eclosión y desarrollo de los embriones en *Lepidochelys olivacea* (CLUSELLA TRULLAS Y PALADINO 2007); también hay trabajos en los que se analiza la mortalidad de los huevos y embriones en nidos de *Lacerta monticola* como consecuencia de la infección fúngica de los huevos (MOREIRA LOPES Y BARATA 2005). A su vez si los sitios para nidificar se escogen año tras año y el material de nido es

reutilizado es posible que la calidad de dicho material disminuya y sea un factor a considerar al momento de analizar las condiciones de incubación y las variables asociadas, como en este caso la micobiota (CLUSELLA TRULLAS Y PALADINO 2007). Para poder entender cuál es el origen de la materia orgánica que constituye los nidos es importante considerar la composición del área circundante al sitio de nidificación (e.g., la composición de la vegetación y la estructura vertical de los mismos) ya que permite comprender los requerimientos de hábitat que posee la micobiota asociada y determinar patrones de diversidad que están ampliamente relacionados con el sustrato y la disponibilidad de hospedadores (LODGE ET AL. 2004).

Hasta la fecha no hay investigaciones que contemplen la relación micobiota-nido y su influencia en las condiciones de incubación en ninguna de las dos especies de caimanes que habitan en la Argentina (*Caiman yacare* y *Caiman latirostris*). Debido a lo expuesto anteriormente surge la importancia de llevar a cabo investigaciones teniendo en cuenta las relaciones entre la micobiota y el microambiente del nido, generando de esta manera información importante con respecto a sus efectos sobre el periodo de incubación y éxito de eclosión en *C. latirostris*. Además se aportan datos sobre la especificidad de los grupos de hongos según la procedencia del material de nido analizado (monte, sabana y embalsado).

Descripción de las entidades biológicas estudiadas

Microhongos: Nociones Generales y Particulares

Existen hongos que viven sobre el sustrato vegetal (ramas, raíces, hojas, etc.), un componente importante en los nidos construidos por distintas especies de cocodrilos, la gran mayoría de los hongos son aerobios y oxidan el sustrato a CO₂ (GRIFFIN 1996). DIX Y WEBSTER (1995) distinguieron entre hongos que se pueden encontrar en hojas de gimnospermas y los que se hallan en hojas de angiospermas. Algunos de los grupos colonizadores son saprotróficos o parásitos facultativos que están restringidos a la superficie de la hoja hasta que ésta muere.

Además de la vegetación, debemos considerar el suelo como otro componente del sitio de nidificación el cual es considerado un medio altamente complejo (BILLS ET AL. 2004). Entre los organismos que habitan los suelos, los hongos comúnmente son los organismos más abundantes en términos de biomasa y actividad fisiológica (KJØLLER Y STRUWE 1982, SCHNÜRER ET AL. 1985) constituyendo aproximadamente el 78-90% del total de la biomasa descomponedora en suelos de zonas de pastizales (FRANKLAND 1982). La mayoría de los grupos taxonómicos representados en este componente del sitio de nidificación son preferentemente: filamentosos saprotróficos (Saprolegniales, Pythiales, Mucorales, Eurotiales, Microascales, Hypocreales, Sordariales, Onygenales, Leotiales y Pezizales) y hongos mitospóricos en cantidad (BILLS ET AL. 2004).

Históricamente los hongos han sido comparados con las plantas e incluidos en los estudios botánicos. Estudios actuales, sin embargo, indican que miembros del Reino Fungi están más emparentados con los animales, posiblemente a través de un ancestro coanoflagelado (BALDANI ET AL. 2000, CAVALIER-SMITH 2001). HAWKSWORTH (2001) calculó que solamente se conoce un 5% de las especies fúngicas totales (aproximadamente 74 mil especies de un estimado total de 1.5 millones de especies) teniendo en cuenta para esta aproximación el conocimiento que se tiene sobre este reino, en las Islas Británicas. El autor estima que la proporción de plantas y hongos es de aproximadamente 5:1. La evidencia disponible sugiere que la diversidad fúngica en los trópicos es mayor que en las zonas templadas (LODGE 1995).

Los hongos monofiléticos han sido clasificados en cuatro phylum: Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota (ALEXOPAULOS ET AL. 1996); sin embargo estudios actuales han demostrado que esa simple clasificación no representa la filogenia de estos organismos con exactitud. El Phylum Chytridiomycota y Zygomycota no constituye un grupo monofilético (JAMES ET AL. 2000). Zygomycota, un grupo con más de 1000 especies, es por definición un grupo polifilético ya que uno de sus grupos (Glomales) es un clado hermano del

clado Ascomycota/Basidiomycota (REDECKER ET AL. 2000, GERNANDT ET AL. 2001); juntos estos tres constituyen el grupo "corona", clado que representa los hongos más derivados (agrupamiento monofilético más alto dentro del Reino hongos). La clasificación actual, entonces, no incluye los zygomycota¹ ya que los hongos aquí incluidos demostraron ser polifiléticos o parafiléticos (WHITE ET AL. 2006). Tampoco fueron incluidos los organismos del Phylum *Oomycota*, de los cuales se entienden pertenecen al Reino *Chromista* (a veces llamado Stramenipila), reino que también contiene las diatomeas y las algas marrones. Estos pseudohongos cromistas se diferencian de los hongos verdaderos por varios caracteres: son flagelados heterocontes, una pared celular con celulosa, diploidía somática, biosíntesis de lisinas, etc., (SEIFER ET AL. 2011).

- **Caracterización de los Phylum**

- Phylum *Zygomycota*: Hongos con paredes de quitina y quitosan. Poseen hifas cenocíticas (generalmente sin septos primarios); los septos están asociados con tapones en forma de lente (cavidad lenticular) en algunos grupos. Tienen una reproducción sexual por medio de fusión de gametangios que dan origen a esporas de paredes gruesas denominadas zigosporas. La reproducción asexual, es por medio de endosporas formadas por clivaje citoplasmático en un esporangio, que forman esporangiosporas inmóviles. Ciertos taxones tienen pocas esporas (esporangiolas) y algunos solo una (esporangio uniesporado), (ALEXOPAULOS ET AL. 1996, HIBBET ET AL. 2007).
- Phylum *Ascomycota*: Hongos unicelulares o con hifas septadas (con un poro septal simple) con paredes de quitina y glucanos. Poseen una reproducción sexual por fusión de hifas modificadas, con producción de esporas sexuales de dispersión, las cuales pueden estar contenidas en un cuerpo fructífero o ascocarpo. Este

¹ Nota: seguiremos empleando el término Zygomycota por ser un término utilizado tradicionalmente en micología.

ascoma contiene ascos cilíndricos, fusiformes, clavados o globosos, persistentes o evanescentes y con estructuras protectoras. Los ascos se desarrollan a partir de hifas ascógenas dentro del ascocarpo (Teleomorfo). Estas hifas ascógenas previa cariogamia y meiosis dan origen al asco. La reproducción asexual es por conidios (esporas mitóticas exógenas que no se originan por clivaje de citoplasma) representan el estado anamórfico de los ascomycota, por ello se los ha llamado también hongos imperfectos. De manera tal en el ciclo de vida de un ascomycota se observa un teleomorfo y un anamorfo (la totalidad del hongo es el Holomorfo) (FIG 1)

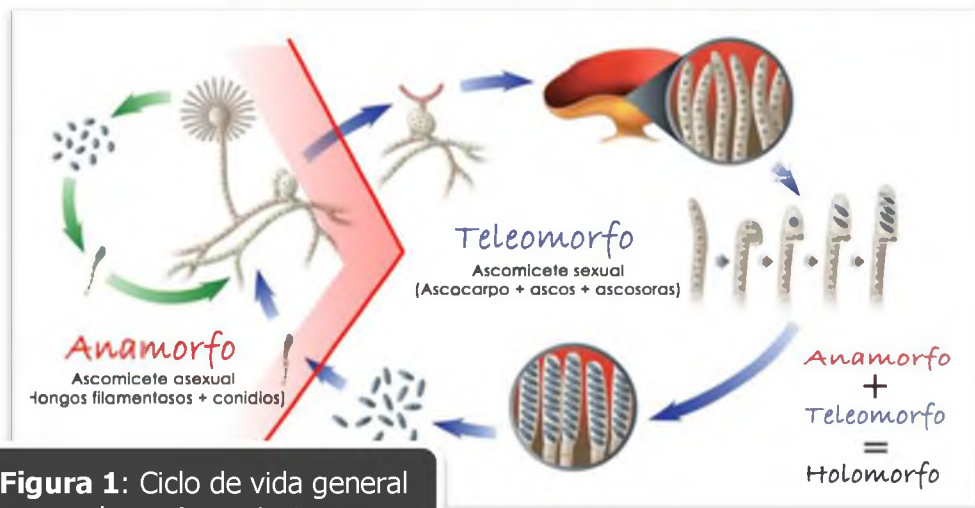


Figura 1: Ciclo de vida general de un Ascomicete

- Phylum *Basidiomycota*: Son hongos con hifas septadas, con un poro septal complejo (Doliporo) que no permite el pasaje de los núcleos. Como resultado de la reproducción sexual, se producen esporas de dispersión exógenas (o basidiosporas). Estos basidios se forman en cuerpos fructíferos. Lo distintivo de estos hongos, es que después de la plasmogamia (unión de hifas compatibles) no hay cariogamia y el micelio vegetativo junto al cuerpo fructífero

es dicariótico. La reproducción asexual es por conidios, aunque se conocen muchas menos formas conidiales para este grupo.

- **Generalidades, metabolismo y estructura fúngica:**

La célula fúngica presenta una gruesa pared quitinosa (distinta en composición a la de bacterias y plantas) y no contiene plastidios ni realiza fotosíntesis. En consecuencia su estilo de vida es netamente heterotrófico y almacenan como reservas glucídicas el Glicógeno (como sucede en las células hepáticas de los vertebrados). Poseen digestión exógena y absorben posteriormente los subproductos para su nutrición (son los únicos eucariontes absorptivos) (DEACON 2006).

Necesitan materia orgánica para obtener sus nutrientes como fuente de energía y síntesis celular por lo que su principal rol ecológico es la descomposición de diversos sustratos, el parasitismo y la simbiosis. La presencia de esa pared quitinosa rígida obliga a estos organismos a obtener esos nutrientes por procesos de absorción donde las pequeñas moléculas como azúcares simples y aminoácidos atraviesan la pared y membrana celular. Las moléculas mas complejas (polímeros, lignina y polisacáridos) deben ser degradados primeramente en el exterior de la célula de las hifas en pequeñas moléculas mediante diversas enzimas extracelulares y luego son absorbidas. Como el agua es un elemento esencial en la difusión de las enzimas por la pared y membrana celular, los hongos activos necesitan ambientes con cierta humedad (PIONTELLI LAFORET 2007).

- **Morfología y Estructura celular:**

Antiguamente se creía que las algas y los hongos tenían un mismo origen y se incluyeron en las Thallophytas, sin embargo los hongos presentan grandes diferencias debido a que carecen de clorofila y no tiene la misma composición de la pared celular, como se aclaró anteriormente. Las dimensiones de la célula fúngica son mayores que la bacteriana, pero generalmente menores que las células animales y vegetales, sin embargo su organización celular no difiere mayormente de las demás células eucariontes. Una estructura rígida fundamental, es la

presencia de una pared de variado grosor (mayor en las levaduras) que no contiene péptido-glucanos ni ácidos teicoicos. Es una estructura pluriestratificada con ciertos niveles caracterizados por compuestos químicos específicos principalmente un 80% o más de hidratos de carbono y el resto por complejos proteicos de polisacáridos del tipo de glicoproteínas, quitina y B-glucanos (polímero de D-glucosa), la quitina se encuentra en forma de microfibrillas formadas por cadenas de polisacáridos y su presencia hace la diferencia entre la pared celular de los hongos y las plantas.

Las dimensiones, forma y estructura de la pared celular fúngica no son estables y pueden variar en relación a las exigencias reproductivas o ambientales. Además la pared le confiere la forma característica y muchas de sus propiedades antigénicas. Es importante destacar que la membrana plasmática a diferencia de las bacterias, contiene ergosterol. La composición química de las paredes fúngicas permite subdividir a los hongos en grupos evolutivamente diferentes: los Zygomycota poseen paredes de quitina-quitosán, los Ascomycota y Basidiomycota de quitina-glucanos y las levaduras de manano-glucanos (PIONTELLI LAFORET 2007).

***Caiman latirostris*, Daudin 1982 (Yacaré Overo o Ñato)**

De las 23 especies actuales del orden Crocodylia, 10 se encuentran en Latinoamérica, incluidas en cuatro géneros: *Caiman*, *Crocodylus*, *Melanosuchus* y *Paleosuchus*. Dos especies del género *Caiman* (Familia Alligatoridae) están presentes en la República Argentina: *Caiman yacare* (yacaré negro) y *Caiman latirostris* (yacaré overo o ñato). *C. latirostris* habita los humedales de Sudamérica. Su área de distribución comprende el noreste de Argentina, sur, sureste y parte del noreste de Brasil, Paraguay, Uruguay y Bolivia (VERDADE 1995, YANOSKY 1990). En nuestro país el yacaré overo ha sido hallado en una diversa gama de ambientes acuáticos de las provincias de Misiones, Corrientes, Chaco, Formosa, Entre Ríos, Santa Fe, Salta y Jujuy (MICUCCI Y WALLER 1995). En Santa Fe se distribuye en la

llanura de inundación del río Paraná, la cuenca del Salado y la cuenca de los Saladillos (LARRIERA 1995) (FIG 2). Los adultos de yacaré overo suelen ocupar cuerpos de agua temporarios, playos y con importantes cobertura de vegetación flotante. Los juveniles suelen encontrarse en zonas poco profundas y vegetadas (MICUCCI Y WALLER 1995).



Cuando nacen los yacarés tienen un peso promedio de 40 g y miden aproximadamente 22 cm (LARRIERA E IMHOF 2000). El tamaño de los adultos machos está en el orden de los 2,60 m de longitud aunque hay registros para la especie de hasta 3,20 m y su peso esta en el orden de los 80 kg, peso más elevado que las hembras el cual es aproximadamente 43 kg en edad reproductiva (PIÑA ET AL. 1996). Su cuerpo es comprimido dorso-ventralmente, la cola es musculosa y afilada lateralmente, su piel es impermeable y la tonalidad de la misma le permite camuflarse en los ambientes en los que se lo encuentra (de allí su denominación vulgar de "overo") (FIG 3).

Figura 3: Imagen del aspecto general de un individuo de Yacaré Overo o *Caiman latirostris*



Las características anteriores les confieren su gran habilidad para nadar en lugares ricos en vegetación donde, gracias a la posición dorsal de sus ojos y narinas, pueden pasar inadvertidos para sus predadores y sus presas (LARRIERA E IMHOF 2006). Aunque el yacaré overo prefiere habitar ambientes acuáticos fuertemente vegetados de difícil acceso para predadores y el mismo ser humano, los hábitats que utiliza para anidar en la naturaleza (LARRIERA 1995) se los encuentra en un amplio rango a lo largo de la cuenca de los ríos Paraná y Salado (MICUCCI Y WALLER 1995). De acuerdo a MONTINI ET AL. (2006), los lugares de nidificación de *C. latirostris* cerca de Santa Fe pueden describirse como: Sabanas (lugares de baja pendiente, donde el estrato vegetativo predominante es el herbáceo), Esteros (ubicados en cuerpos de agua fuertemente vegetados; predomina la vegetación hidrófila) y Monte (ubicado en zonas más altas, caracterizado por un estrato arbóreo dominante, escaso estrato arbustivo y herbáceo); como todos los crocodylia que viven en regiones templadas, el yacaré overo (*C. latirostris*) tiene una marcada estacionalidad muy relacionada con la temperatura ambiente (LANCE 2003).

Cuando llega la primavera y aumenta la temperatura, comienzan a alimentarse hasta llegar al pico máximo de actividad en la temporada reproductiva.

En este período se producen algunas disputas por el territorio hasta que se observan las primeras cópulas (PIÑA ET AL. 2003). A mediados de diciembre las hembras empiezan a construir sus nidos en forma de montículo y a fines de dicho mes cada hembra realiza una única postura por la noche en la que deposita aproximadamente 36 (\pm 6) huevos (LARRIERA 1994), aunque esto varía con la edad y el tamaño de la hembra (LARRIERA ET AL. 2004). Los nidos en forma de montículo actúan como incubadoras naturales y están formados por material vegetal de origen variable, tierra, arena, ramas y deyecciones; estos materiales por acción de la temperatura fermentan y producen una temperatura interior que varía entre los 29 °C y 33 °C durante el periodo de incubación. El período de incubación dura entre 65 y 90 días, dependiendo de la temperatura, ya que el tiempo de incubación es inversamente proporcional a la temperatura de incubación (PIÑA ET AL. 2003).

La temperatura de incubación es importante porque esta especie posee determinación sexual por temperatura (TSD), el cual es un proceso biológico fundamental que tiene profunda importancia para el desarrollo de los individuos y en la formación de ambos sexos en las poblaciones naturales (SARRE ET AL. 2004). La determinación sexual por temperatura es el proceso más estudiado y ocurre entre todos los cocodrilianos (LANG Y ANDREWS 1994, PIÑA ET AL. 2003), la mayoría de las tortugas y muchos lagartos investigados hasta el momento (LANCE Y BOGART 1994, VIETS ET AL. 1994), el patrón de la determinación sexual por la temperatura varía grupo a grupo. En la determinación sexual por temperatura, el porcentaje de sexos en los nidos varía según la temperatura de incubación desde 100 % de hembras hasta 100 % de machos.

Para algunos autores tres son los patrones de determinación sexual por temperatura en la incubación artificial de huevos a temperaturas constantes (EWERT ET AL. 1994). Estos tres patrones o perfiles de temperaturas que han sido descritos para especies con TSD, son los siguientes: *macho-hembra* (MH), *hembra-macho* (HM) y *hembra-macho-hembra* (HMH). En el tercer patrón, HMH,

las hembras son producidas a bajas temperaturas y la mayoría de machos son producidos a temperaturas intermedias y las hembras se producen nuevamente a altas temperaturas (ELF 2003). Este patrón se observa en todos los cocodrilianos estudiados hasta la fecha (LANG Y ANDREWS 1994) observando pequeñas variaciones de temperatura entre ellos. En reptiles que poseen este mecanismo, el sexo es determinado luego de la fertilización por las condiciones ambientales que prevalecen durante la incubación del embrión y son ampliamente independientes de las influencias genéticas directas (BULL 1983). En *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) se observó que individuos incubados en laboratorio bajo condiciones controladas de temperatura, eclosionan con el sexo definido presentando un patrón HMH de TSD. Donde se obtienen hembras a las temperaturas de 29 °C y 31°C, machos a una temperatura de 33 °C y una mezcla de sexos con una proporción 6 machos: 4 hembras a una temperatura de 34.5 °C (PIÑA ET AL. 2003).

Por todo lo expuesto anteriormente y a partir de la importancia que están adquiriendo los hongos como agentes patógenos en reptiles silvestres en cualquiera de sus estadios de desarrollo, es que surge la necesidad de investigar como estos organismos interactúan con estos vertebrados y como afectan la supervivencia de estos animales en la naturaleza.

HIPÓTESIS

- Hipótesis 1:

La composición de la microbiota presente en los nidos de *Caiman latirostris* varía según el hábitat de nidificación (monte, sabana o embalsado)

- Hipótesis 2:

La presencia de esporas de hongos patógenos como *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum* en los nidos afecta el éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos de *Caiman latirostris*.

Objetivos

- Objetivo general:

Estudiar la diversidad de microhongos que se establecen en el material de nido de *Caiman latirostris* y analizar si la composición fúngica encuentra variación según el tipo de nido muestreado (según se hayan construidos en la unidad de Monte, Sabana o Embalsado de los sitios de nidificación). Determinar si esta micobiota asociada ejerce alguna influencia negativa sobre las condiciones de incubación afectando la sanidad de los huevos, éxito de eclosión, porcentaje de huevos perdidos y tamaño de los pichones. También se realizará una descripción florístico-estructural de los sitios de nidificación, esto último es información necesaria para la determinación de hongos que son específicos de ciertos sustratos. Además, este trabajo podría favorecer el aprovechamiento, manejo y preservación de esta especie de caimán nativo.

- Objetivos específicos:

- Caracterizar desde el punto de vista florístico los ambientes de nidificación de *Caiman latirostris*.
- Caracterización florística de los nidos (monte, sabana y embalsado). Aislamiento e identificación de los hongos hallados en el material de nido, caracterización de las comunidades fúngicas y análisis de la afinidad de estos ensamblajes fúngicos con cada ambiente de nidificación.

- Caracterizar la microbiota presente en la cloaca de hembras reproductoras capturadas en ambientes naturales y analizar su relación con el Índice de Masa Corporal de cada hembra (IMC)
- Identificar los hongos asociados a las cáscaras y membranas de los huevos. Evaluar si la cáscara se comporta como barrera para que microorganismos externos al huevo no alcancen la membrana.
- Estudiar la presencia de algunas especies fúngicas patógenas (*Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum*) y su efecto sobre la incubación de los huevos (período de incubación, éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos).

Capítulo 1

A digital painting of a tropical landscape. In the foreground, a dirt path leads through dense vegetation, including tall grasses and various shrubs. The middle ground features several large, leafy trees with dark trunks. The background shows a hazy, mountainous landscape under a sky with soft, white clouds. The overall color palette is dominated by greens, browns, and blues, with a slightly muted, painterly style.

Composición
florística de los
ambientes de
nidificación de
Caiman latirostris

1.1 ANTECEDENTES

Desde el punto de vista geográfico, Santa Fe limita al norte con la provincia del Chaco, al sur con Buenos Aires, al oeste con la de Córdoba y Santiago del Estero y al este con el río Paraná, que lo separa de las provincias de Corrientes y Entre Ríos.

En la provincia de Santa Fe, los departamentos de San Justo y San Javier conjuntamente con el de 9 de Julio, Vera, General Obligado, Garay, casi todo el departamento Capital y parcialmente los departamentos San Cristóbal, Castellanos y Las Colonias; abarcan un área triangular que forma el extremo sudeste de la gran llanura chaqueña. Asimismo, el gran Chaco Sudamericano es una vasta llanura interior que cubre un territorio de 840.000 km² en el interior de Sudamérica. Está caracterizado por sabanas, bosques y grandes pantanos, paisaje que le da una identidad muy definida en el continente. El Chaco puede ser definido como una serie de enormes abanicos aluviales, generados por los ríos mayores que fluyen desde las montañas del oeste hacia los ríos Paraguay y Paraná. La caracterización general del clima de la zona es húmedo tropical en el noreste derivando a húmedo subtropical-templado en el sur y un clima desértico subtropical en el oeste. Durante el mes de enero la temperatura promedio de la zona es de 27.5°C lo que la convierte de las zonas más cálidas (PAOLI ET AL. 2000). Las temperaturas promedios durante el mes de julio son entre 20°C y 25°C en el norte y 10°C – 15°C en el sur. Posee un gradiente de precipitaciones este – oeste.

La principal vía fluvial de Santa Fe es el río Paraná que sigue una dirección aproximada de norte a sur. Asimismo, la provincia presenta numerosos ríos y arroyos tributarios del Paraná, el Salado y el Carcarañá; también se observa un gran número de cañadas y lagunas temporarias y permanentes que completan el sistema hidrogeográfico de esta provincia. La región estudiada se ve influenciada por los cambios hidrológicos del Sistema del Salado, el río Salado que desemboca en el Paraná en las cercanías de la capital, tiene en algunos lugares y en ciertas épocas del año un caudal insignificante. La cuenca de este río tiene una

superficie de 247.000 km² y el río en sí, una longitud de 2500 km; el tramo que atraviesa la región Chaco es permanente y bien definido hasta que en la latitud 25° 40' S se introduce dentro de una región de bañados (bañado de Copo) (IRIONDO Y PAIRA 2007). La cuenca del salado en Santa Fe está formada por dos partes desiguales; en su margen derecha comprende a los Bajos Submeridionales y a la Cuña Boscosa, y recibe los aportes de agua de inundación no encauzada de aquellos y del arroyo Golondrinas. Al torcer al sur, después de la confluencia con el Golondrina, la cuenca se torna fuertemente asimétrica. En la margen derecha se extiende entre 100 y 130 km, con desarrollo de varias subcuencas, de orientación general oeste-este: Saladillo, Las Conchas, Las Vizcacheras, San Antonio, Arizmendi y Cululú. En la margen izquierda, la cuenca está reducida a una faja de 5 a 15 km de ancho y sin cauces afluentes, excepto el arroyo Pantanoso cuya subcuenca se extiende hacia el norte.

Desde su geomorfología, los Suelos que se desarrollan en la provincia de Santa Fe se han generado sobre diversas rocas sedimentarias. La topografía del terreno es en líneas generales un relieve de llanura en el cual se distinguen distintos elementos, es parte de la llanura Chaco pampeana, por lo que se muestra en sus manifestaciones superficiales con bajas a muy bajas pendientes y comportamiento topográfico monótono. Esta monotonía es sólo aparente dado que en subsuelo la llanura agradacional está condicionada por fosas y pilares tectónicos, receptora de un potente paquete de sedimentario (IRIONDO 2007). El esquema estructural geomorfológico de la provincia está dividido en dos dominios: el Dominio Fluvial y el Dominio Eólico, la zona de estudio propuesta para este trabajo se encuentra emplazada dentro del dominio fluvial más precisamente en el Sistema del Paraná dentro de la unidad geomorfológica Bajo de los Saladillos. El bajo de los Saladillos es una antigua llanura aluvial del Paraná, aparece aproximadamente entre las localidades de Romang y Alejandra (29° S a 29° 30' S) y se extiende hacia el sur hasta la ciudad de Santa Fe, a más de 200 km de distancia. Es una faja deprimida e inundable de 35 a 40 km de ancho, con borde occidental bien marcado y límite oriental irregularmente definido. Está compuesta por una superficie general completamente horizontal

con algunas hoyas de deflación formadas por depósitos palustres de dos a tres metros de espesor, que enmascara parcialmente y en grados diversos a los elementos geomorfológicos fluviales anteriores. Se encuentran en esta faja una serie de grandes lagunas redondeadas y elípticas de hasta 10 km de diámetro, son la laguna el Cristal, Redonda, del Plata y otras (IRIONDO 2007).

1.1.1 La vegetación por regiones: generalidad sobre el enfoque ecorregional.

Las regiones ecológicas o ecorregiones son grandes áreas, relativamente homogéneas en las que hay diferentes comunidades naturales que tienen en común un gran número de especies y condiciones ambientales. Las ecorregiones son el nivel de organización biológica más apropiado para conservar la variabilidad de especies, de ecosistemas y sus funciones. El término se origina a partir de las regiones fitogeográficas o biogeográficas pero incluye otros valores que van más allá de los biológicos. Por la ubicación altitudinal, la Argentina, posee una alta diversidad climática y ecorregional; se encuentran ambientes como selvas subtropicales como las Yungas y la Paranaense, bosques xerófilos (Chaco y el Espinal), pastizales sometidos a fuertes variaciones interanuales de las precipitaciones (Pampa) hasta ambientes de climas desérticos (Puna, Estepa Patagónica y Monte).

Nuestro país es subdividido actualmente en 18 ecorregiones, de las cuales 15 corresponden al área continental y las otras tres a las islas del Atlántico Sur, a la Antártida Argentina y al mar Argentino (BURKART ET AL. 1999). Las mismas están definidas en función de las variables climáticas, la biodiversidad y las características ecológicas particulares de funcionamiento (BROWN ET AL. 2005).

1.1.2 La provincia de Santa Fe y sus ecorregiones

Las ecorregiones de la provincia de Santa Fe, que son consideradas en esta tesis, son:

- Ecorregión Espinal
- Ecorregión Delta e Islas del Paraná
- Ecorregión Chaco Húmedo

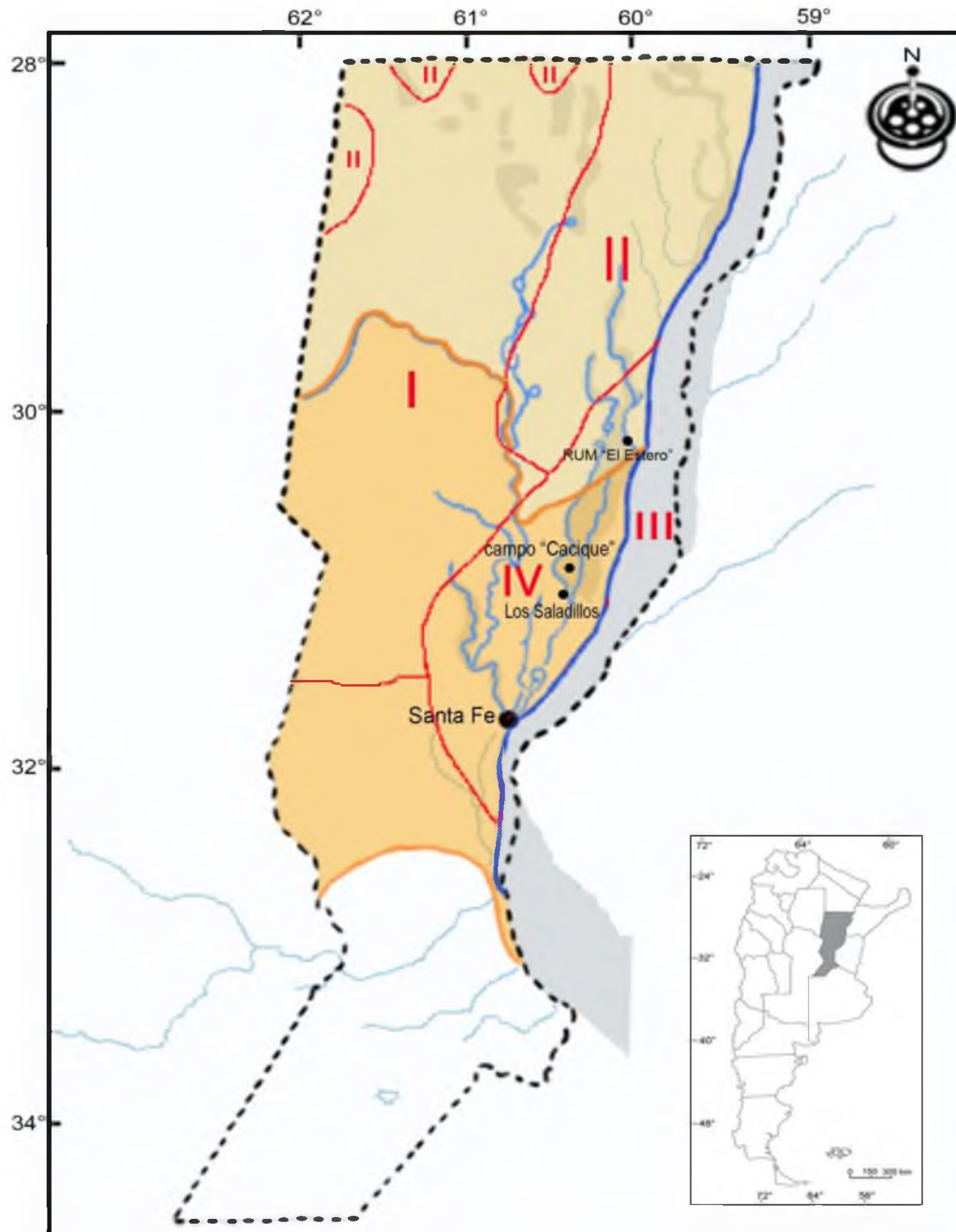


Figura 1.1: Ecorregiones de la provincia de Santa Fe (**Naranja oscuro:** Ecorregión del Espinal; **Naranja claro:** Ecorregión Chaco Húmedo; **Gris:** Ecorregión Delta e Islas del Paraná) y Regiones Fitogeográficas (**I:** Región de las sabanas de *Elionorus*, sabanas de *Leptochloa chloridiformes*, espartillares, chilcales y manchones salobres con *Distichlis spicata* o *Sporobolus pyramidatus*; **II:** Región de los quebrachales, palmares de *Copernicia alba*, algarrobales y esteros de *Cyperus giganteus*; **III:** Región de los pajonales de *Panicum prionitis* y bosques en galería; **IV:** Región de los espinillares de los géneros *Acacia* y *Prosopis* alternando con praderas) donde están incluidas las zonas de muestreo.

La vegetación de la provincia presenta aspectos muy variados como consecuencia lógica de la diversidad de los factores ecológicos y de la extensa superficie que abarca. Particularmente, en el norte y centro de la misma está cubierto por una vegetación diferente a la del sur tanto en lo que se refiere a su composición florística como a su fisonomía (RAGONESE 1941).

-Ecorregión del Espinal: desde el punto de vista de las especies arbóreas, el Espinal, está caracterizado por el género *Prosopis*, aunque incluye asociaciones de especies muy diferentes entre sí. Esta ecorregión representa, en casi toda su extensión, una fisonomía en la que se combinan parches de bosque con pastizales y, en ocasiones, con comunidades palustres. Esta combinación de leñosas y herbáceas está representada en los departamentos Castellanos, Garay, La Capital, Las Colonias, San Cristóbal, San Javier y San Justo (ARTURI 2005). Según RAGONESE (1941) en esta ecorregión estarían incluidas las regiones de comunidades vegetales (FIG 1.1):

(I) Región de las sabanas de *Elionorus*, sabanas de *Leptochloa chloridiformes*, espartillares, chilcales y manchones salobres con *Distichlis spicata* o *Sporobolus pyramidatus*;

El departamento San Cristóbal se lo considera como el más representativo. Las principales especies leñosas son Algarrobos (*Prosopis* sp.), Ñandubay (*Prosopis affinis*), Quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho blanco*), Caranday (*Trithinax campestris*), Mistol (*Ziziphus mistol*), Chañar (*Geoffroea decorticans*), Aromo (*Acacia caven*), Garabato (*Acacia praecox*) y Tusca (*Acacia aroma*). El promedio de altura de esta formación es de 4 – 5 m. También se presenta el "Chañaral" con algunos individuos aislados de Algarrobos, Curupí (*Sapium haematospermum*) y otras arbustivas.

En cuanto a la vegetación herbácea, según RAGONESE (1941), en esta región predominan las sabanas de pasto amargo y los espartillares. En las sabanas predomina una gramínea del género *Elionorus*, que es el elemento más abundante asociada a distintas especies, entre ellas: *Heimia salicifolia*, *Eryngium ebractatum*, *E. elegans*, *Baccharis artemisioides*, *B. articulata*, *B. coridifolia*, *Poa*

ligularis, *Eupatorium inulaefolium*, *Pterocaulum subvirgatum*, entre otras. En esta región también son muy comunes las cañadas salobres, ocupadas por grandes matas de *Spartina argentinensis* (espartillo) que no cubren todo el suelo, sino que dejan espacios de tierra desnuda donde se pueden observar algunas plantas de menos altura como: *Salicornia corticosa*, *Euphorbia serpens*, *Malvella leprosa*, *Heliotropium curassavicum*, *Pterocaulon subvirgatum*, *Scoparia flava*, etc.

(IV) Región de los espinillares de los géneros *Acacia* y *Prosopis* alternando con praderas.

Abarca el departamento La Capital y parte de los departamentos Las Colonias, San Gerónimo, San Justo, San Javier y Garay. Esta región ha estado cubierta primitivamente por espinillares y praderas. La composición florística y el aspecto de la vegetación es similar a la que cubre la mayor parte de la provincia de Entre Ríos, aunque actualmente se ha alterado profundamente la fisonomía original de la vegetación debido a que las tierras se han destinado a la agricultura y la ganadería. La vegetación leñosa está representada por: Espinillares (el aromito o espinillo y chañar son leñosas que se encuentran en mayor cantidad y hay una menor frecuencia de algarrobos), Algarrobales (se encuentran más hacia el norte con la presencia de ñandubay, algarrobo blanco (*Prosopis alba*), algarrobo negro (*Prosopis nigra*), guaraniná (*Sideroxylon obtusifolium*), mamón del monte (*Carica quercifolia*) y quebracho blanco y quebrachales hacia el norte hay presencia de quebracho colorado (*Schinopsis balansae*), viraró (*Ruprechtia laxiflora*) y mayor presencia de quebracho blanco, coronillo (*Scutia buxifolia*) y garabato (*Acacia praecox*). Gran parte de las especies observadas en las praderas, de esta región, son coincidentes con las que cubren parte del albardón arenoso de la costa, aunque en las praderas se nota la ausencia de muchas plantas psamófilas propias del albardón. En las praderas es común encontrar: *Andropogon laguroides*, *Chloris* sp., *Eleusine tristachya*, *Eragostris* sp., *Melica* sp., *Panicum* sp., *Paspalum* sp., *Desmodium incanum*, *Oxalis* sp., *Verbena peruviana*, *Solanum* sp., *Scoparia flava*, *Oenothera* sp., *Mimosa* sp., etc.

-Ecorregión Delta e Islas del Paraná: en términos generales, se trata de macroecosistemas complejos en los que los flujos de energía y materiales ocurren como pulsos de inundación y sequía. Estos macroecosistemas incluyen ambientes acuáticos permanentes, temporarios y sectores de tierra firme distribuidos en gradientes desde los canales principales hacia los laterales de sus llanuras aluviales (NEIFF Y MALVÁREZ 2004). Las comunidades bióticas pueden presentar importantes diferencias en su complejidad y diversidad específica; se observan claramente gradientes entre las distintas secciones del río y entre los diferentes componentes de la llanura de inundación (MARCHESI ET AL. 2002).

En el sistema convergen características ecológicas de las regiones biogeográficas Neotropical, Paranaense, Chaqueña oriental y Espinal, entre otras, lo que explica la alta diversidad de especies, funciones y atributos únicos. El sector del río Paraná que se encuentra en la provincia de Santa Fe es el Paraná medio. Este tramo se halla conformado por depósitos aluvionales que constituyen islas. Las mismas, posteriormente, se unen para constituir la planicie de inundación que forma una faja de 10 a 30 km de ancho cubierta por una vegetación variada. En los albardones se encuentran bosques, siendo en el norte variados en especies altas, densas e higrófilas pero hacia el sur se empobrecen cada vez más. En los lugares cubiertos con agua en forma permanente (lagunas, remansos, arroyos y riachos) se desarrolla una rica flora hidrófila (BÓ 2005). De acuerdo a la ocurrencia y distribución de las comunidades vegetales, dentro de esta ecorregión según RAGONESE (1941) se pueden identificar dos regiones fitogeográficas:

(III) Región de los pajonales de *Panicum prionitis*, bosques en galería, praderas con pastos tiernos de los géneros *Paspalum* y *Axonopus*, ceibales, palmares de *Butia yatay*, espinillares con predominio de *Acacia* y *Prosopis* y vegetación hidrófila (embalsados).

-Espinillares con predominio de los Géneros *Acacia* y *Prosopis*: en general, en la ecorregión Delta e Islas del Paraná prevalecen las selvas en galería ricas en lianas y epífitas que se hallan a lo largo de los ríos en los albardones de las islas que componen el sistema del Paraná medio

(CABRERA 1971). También existen bosques bajos y ralos en los cuales predominan leguminosas espinosas de aspecto xerófilo. El estrato arbóreo y arbustivo alcanza de 3 a 6 m de altura y está constituido generalmente por espinillo (*Acacia caven*), algarrobo (*Prosopis* sp.), Ñandubay (*Prosopis algarrobilla*), tusca, chañar, cina-cina (*Parkinsonia aculeata*), *Lippia ligustrina*, *Holmbergia tweedii* y tala (*Celtis espinosa*). Entre las cactáceas se encuentran *Echinopsis mimiana*, *Harrisia guelichii*, *H. Martini* y *Opuntia chaquensis*; además entre las enredaderas y lianas se puede hallar *Boussingaultia gracilis*, *Blumebachia insignis*, *Clematis hilarii*, *Dolichandra cynanchoides*, *Morrenia brachystephana*, *Muehlenbeckia sagittifolia*, *Passiflora caerulea*, *Pithecoctenium cynanchoides* y *Tweedia brunonis*. Esta composición florística sería una extensión de la ecorregión del espinal.

- **Embalsados:** dentro de la vegetación hidrófila se considerarán las halladas en otros trabajos, para el ambiente de "Embalsado" que es una unidad funcional de los esteros y el ambiente principal donde desarrolla parcialmente sus actividades *Caiman latirostris*. Estas áreas de vegetación vascular emergen y se mueven verticalmente de acuerdo a las variaciones de los niveles de agua en las depresiones del paisaje donde se forman. Es una masa de vegetación arraigada en un suelo fangoso y restos de vegetales en distinto grado de descomposición, retenidos por las raíces entrecruzadas, que flota sobre uno o dos metros de agua. Se ubican en la zona de transición entre el espejo de agua y el límite de desarrollo de los juncales de la costa (GANTES Y TORREMORELL 2005). La comunidad vegetal está caracterizada por *Scirpus giganteus* (paja brava), *Schoenoplectus californicus* ("junco"), *Paspalum quadrifarimu*, *Cortaderia selloana* ("plumacho"), *Hydrocotyle* sp. (redondita de agua), *Baccharis* sp. ("chilcas y carquejas"), y *Ludwigia* sp. Las ciperáceas: *Carex polystachya*, *C. riparia* y *Fuirena robusta*; *Cladium jamaicense* (rosa colorada), *Eleocharis plicarhachis* y *Rhynchospora marisculus* (sombrilla), hierbas como *Aspidogyne bidentifera*, *Bacopa scabra*, *Eriochrysis laxa* y *Pelexia paludosa*, arbustos como *Hibiscus*

sororius y *Buddleja thyrsoides*, y trepadoras como *Ipomoea subrevoluta*, *I. fimbriosepala* y *Vigna adenantha* (poroto de campo). Además los musgos *Sphagnum cuspidatum*, *S. magellanicum* y los helechos *Osmunda cinnamomea*, *Pityrogramma calomelanos* y *Thelypteris rivularioides*. (CABRERA 1971).

-Ecorregión del Chaco Húmedo: en la provincia de Santa Fe, se encuentra representada, además de las ecorregiones descritas anteriormente la ecorregión Chaco Húmedo (GINSBURG Y ADÁMOLI 2005). Según CABRERA (1971) el territorio biogeográfico que se encuentra representado en el centro-norte de la provincia es el Distrito Chaqueño Oriental, con clima templado húmedo con una temperatura media anual de 22 °C y temperaturas absolutas que pueden alcanzar máximas superiores a los 40 °C y mínimas bajo cero. Las precipitaciones registran máximas en el este (1300 a 2200 mm) y disminuyen hacia el oeste (750 mm apróx.) y el período de lluvias se concentra durante los meses de octubre a abril.

La composición florística del área según RAGONESE (1941) y CABRERA (1971) es coincidente, aunque la primera es más detallada, correspondiendo con la descripción de: región de los quebrachales, palmares de *Copernicia alba*, algarrobales y esteros de *Cyperus giganteus*. Dentro del área, específicamente, la descripción florística se adecua a la de los bosques de *Prosopis* y *Cereus coryne* y esteros de *Cyperus giganteus*.

(II) Bosques de *Prosopis* y *Cereus coryne*: en los alrededores del arroyo El Toba se observa, sobre suelos salobres, la presencia de bosques de algarrobo y una cactácea arbórea. En comunidad con estas dos especies crecen diversos árboles y arbustos, tales como: *Aspidosperma quebracho-blanco*, *Cyclolepis genistoides*, *Grabowskia duplicata*, *Lycium* sp., *Maytenus Vitis-ideaea*, *Tessaria dodoneifolia*, etc. Entre las cactáceas, además, suelen hallarse: *Cleistocactus baumannii*, *Echinopsis minuana*, *Gymnocalycium* sp. y *Opuntia anacantha*. En el suelo

crecen algunas plantas herbáceas adaptadas a soportar exceso de sales, tales como: *Cienfuegosia argentina*, *Heliotropium curassavicum*, *Grindelia pulchella*, *Portulaca* sp., *Sclerophylax spinescens*, *Sesuvium portulacastrum*, etc.

Esteros de *Cyperus giganteus*: los esteros son terrenos bajos inundados en forma casi permanente, cubierto de plantas palustres. Generalmente la especie dominante es la *C. giganteus*, aunque también se encuentran plantas de los géneros: *Panicum* sp., *Paspalum* sp., *Cyperus* sp., *Eleocharis* sp., *Rhynchospora* sp., *Scirpus* sp., etc.

1.1.3 Hábitats de nidificación de *Caiman latirostris*

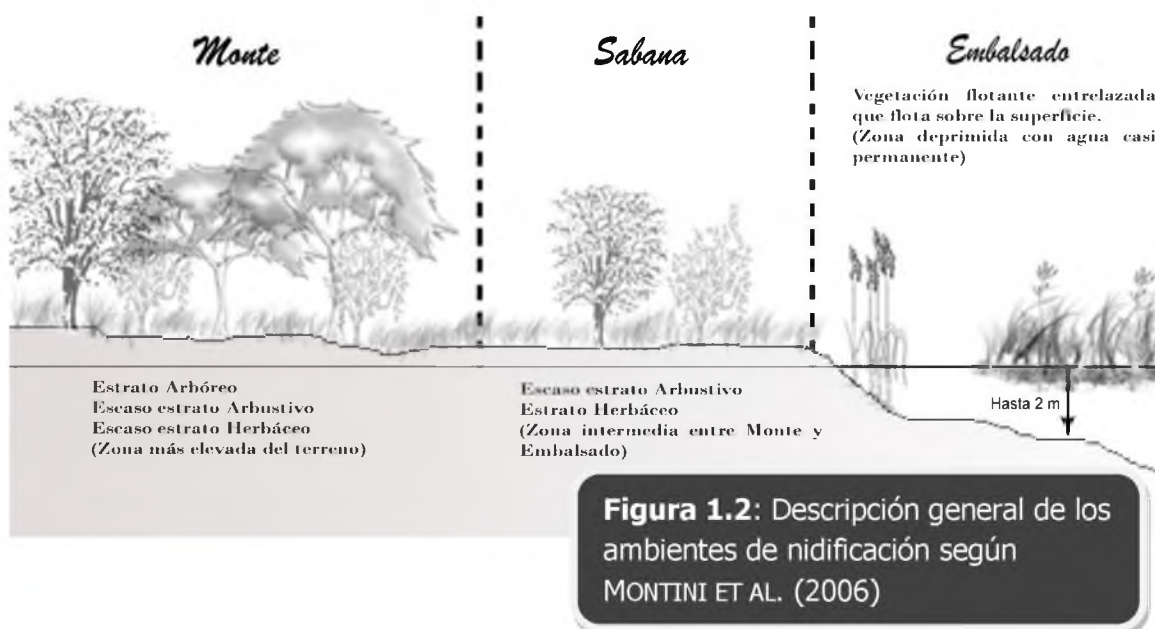
En otras especies de cocodrilianos se han realizado trabajos de caracterización del hábitat de nidificación con el objetivo de aportar información más detallada de la ecología de nidificación de las especies y su relación con variables como: tamaño de postura, tamaño de las hembras, tamaño de los huevos, abundancia de nidos con respecto al hábitat considerado, tipo de material vegetal que constituye los nidos, aptitud de hábitat, etc. (BRANDT Y MAZZOTTI 2000, CAMPBELL Y MAZZOTTI 2004, PALMER Y MAZZOTTI 2004, MONTINI ET AL. 2006, NOHORA 2010). Para *Caiman latirostris* fueron estudiadas estas variables antes mencionadas pero, hasta el momento, no se ha analizado específicamente la composición florística de sus sitios de nidificación.

Dentro de las características de la especie, es importante recordar que una vez que las hembras son fecundadas se apartan de los ambientes de residencia habitual a lugares alejados con aguas permanentes aún en la profundidad del monte para iniciar la construcción del nido (YANOSKY 1990). Según MONTINI ET AL. (2006) los ambientes de nidificación se pueden clasificar en (FIG 1.2):

- **Sabana:** Sitios con baja pendiente que sufre inundaciones en épocas de mucha lluvia. Los nidos se hallan frecuentemente en la zona descubierta próxima a los

cuerpos de agua y estos nidos están construidos en su mayoría por material vegetal herbáceo. El estrato arbóreo está escasamente representado, con mayor representación del estrato arbustivo.

- **Monte:** Zona más elevada del terreno que puede sufrir inundaciones ocasionales en años de lluvia fuerte. Los nidos que se hallan en este ambiente pueden estar a 2000 m de los cuerpos de agua y están construidos generalmente con barro, pequeños restos de ramas y herbáceas. En este ambiente está bien representado un estrato arbóreo, menor representación de un estrato arbustivo y escaso estrato herbáceo con la presencia de grandes espacios de suelo desnudo.
- **Embalsado:** Cuerpos de agua fuertemente vegetados, los nidos son construidos con vegetación herbácea y flotan sobre la vegetación entrelazada en la superficie del agua.



Esta clasificación general de los ambientes de nidificación proporciona una noción de la topografía del terreno y del ordenamiento vertical de la vegetación

sin importar la ubicación ecorregional del sitio de nidificación ni su composición vegetal específica. Los censos de vegetación permitirán caracterizar el monte, la sabana y los embalsados según su composición florística ya que, hasta el momento, se denomina de esta forma a cualquier zona de muestreo con una fisonomía similar a la descrita por MONTINI ET AL. (2006) sin considerar en que región fitogeográfica (RAGONESE 1941) o ecorregión de la provincia se encuentren. De esta forma, se aporta información básica necesaria para trabajos en los que sea necesario conocer la conformación vegetal de los ambientes donde desarrolla sus actividades el yacaré, entre ellas, la construcción de sus nidos. Por lo tanto, la definición de la composición florística del ambiente de nidificación según su ubicación geográfica dentro de la zona de distribución de *Caiman latirostris* en la provincia es útil, ya que constituye el sustrato principal de los nidos sobre el que se desarrolla la micobiota cuya identificación es uno de los temas centrales de esta tesis.

Por lo tanto, teniendo en cuenta la totalidad de los antecedentes expuestos se plantea el desarrollo de los siguientes objetivos.

1.2 OBJETIVOS

- Descripción florístico-estructural de los ambientes de nidificación de *Caiman latirostris*.
- Listar las especies vegetales presentes en cada ambiente de nidificación (monte, sabana y embalsado) y determinar sus correlaciones ecorregionales y fitogeográficas sugeridas en la bibliografía para la provincia de Santa Fe.

1.3 METODOLOGÍA

La vegetación se describió a través de su estructura vertical y horizontal. Se determinaron las alturas de los estratos de cada unidad fisonómica utilizada por *C. latirostris* para la nidificación (RANGEL Y VELÁSQUEZ 1997); además se analizó

el ordenamiento horizontal considerando para el grupo presencia y cobertura. Se siguió una serie de etapas metodológicas para llevar a cabo esta parte de la investigación:

Sitios de Muestreo: Reserva de Uso Múltiple "El Estero" 30° 03' 44,4" S y 59° 58' 00,9" W, campo "El Cacique" 30° 43' 08,65" S y 60° 17' 19,86" O y Los Saladillos 30° 43' 21,47" S y 60° 17' 30,05" O) y los ambientes característicos que fueron los sitios donde nidifica *C. latirostris*. (FIG 1.1)

Metodología de Muestreo: El muestreo se estratificó por la fisionomía (según los estratos observados), se ubicaron las muestras o unidades muestrales al azar. Este es un modelo abierto que en caso de necesidad nos permitió agregar unidades muestrales siempre y cuando esto se realice al azar. Para este muestreo se realizaron transectas (10 m x 2m) en parches de vegetación natural con relativa homogeneidad y extensión (MATTEUCCI Y COLMA 2002).

Durante la temporada 2008 – 2010 se realizaron 45 censos de vegetación en los sitios elegidos para realizar esta tesis (Los Saladillos, Campo "Cacique" y en la Reserva de Uso Múltiple "El Estero") en los ambientes de monte (n = 18) y sabana (n = 18) y embalsado (n = 9) durante la época de verano y primavera. La mayoría de los ejemplares vegetales colectados en los censos pudieron ser determinados a nivel de especie. Los especímenes colectados que no presentaban carácter diagnóstico específico fueron clasificados a nivel de género. Los ejemplares que no se determinaron en campo se herborizaron y su determinación se realizó comparando con material de referencia depositado en el herbario de la Facultad de Agronomía (UNL) de la ciudad de Esperanza (Pcia. de Santa Fe). Se confeccionaron listas de especies vegetales (más su porcentaje de cobertura) de cada sitio de muestreo. Al estrato arbóreo se lo codificó en tablas como (Ar), al arbustivo como (ar) y al herbáceo como (her) y si dentro de estos estratos se reconocían dos alturas bien diferenciadas se las codificó con 1 y 2 para las más baja y la más alta, respectivamente. Una vez finalizados los muestreos los porcentajes de cobertura de las especies sobre el terreno,

calculados de manera subjetiva, se transformaron para una mejor presentación según la escala de BRAUN-BLANQUET (1932).

Sistema de Braun-Blanquet	
r	unos pocos individuos
+	Menos de 5% de cobertura y ocasional
1	> 5%
2	5% a 25%
3	25% a 50%
4	50% a 75%
5	75% a 100%

Análisis de datos: Los análisis se hicieron sobre la matriz con los datos de presencia-ausencia (1 y 0, respectivamente) de las especies vegetales halladas en cada unidad muestreada (Monte, Sabana y Embalsado en cada sitio). No se utilizaron los datos de cobertura para este análisis para evitar errores porque los muestreos no se realizaron en el mismo momento y difieren en el esfuerzo de muestreo. Se realizó una clasificación aglomerativa y jerárquica (Cluster) utilizando el índice de similaridad de Jaccard y agrupando los coeficientes de similaridad con el algoritmo UPGMA porque este método muestra los mejores valores de correlación cofenética independientemente de la medida de similitud que se use. El coeficiente de Jaccard es considerado como el índice de similaridad más confiable para los datos de presencia-ausencia, el cual es la medida de la proporción de elementos (taxas) que dos lugares tienen en común.

Se calculó la Riqueza específica (S) en cada censo realizado (PAST SOFTWARE, PALEONTOLOGICAL DATA ANALYSES, 2009). En este caso consideramos que los valores de riqueza específica pueden estar subestimando los valores reales de cada sitio por los especímenes que solo se pudieron determinar a nivel de género.

1.4 RESULTADOS

Se censaron un total de 50 familias, 131 géneros y 174 especies de plantas, los cuales se organizaron en listas florísticas específicas de cada unidad de hábitat considerados (Monte, Sabana y Embalsado) en los sitios de muestreo Reserva de uso múltiple "El Estero", campo "Cacique" y Los Saladillos (ver TABLAS en anexo).

Los porcentajes de similitud resultaron muy bajos entre las unidades de hábitat de cada lugar (TABLA 1.1). En el único caso donde se observó una similitud relativamente elevada con respecto a las demás fue entre la composición florística del Embalsado de Los Saladillos y el Embalsado del campo el Cacique (45%), el resto de las composiciones comparten valores de similitud menores al 28% (TABLA 1.1).

Si bien la similitud es baja, en el dendograma (FIG 1.3) se puede observar una tendencia a agrupar los ambientes de Sabana y Monte por un lado y por otro los Embalsados.

En cuanto a la representación considerando la jerarquización de los individuos en Familias, Géneros y Especies en RUM "El Estero" es mayor el porcentaje de familias, géneros y especies vegetales con respecto a los otros dos sitios (FIG 1.4).

Tabla 1.1: Coeficientes Jaccard de similaridad para las unidades de vegetación censadas en cada sitio de muestreo (años 2008 – 2010). Los valores faltantes fueron aproximadamente 0. E = Embalsado; S = Sabana y M = monte. 114 = Los Saladillos; cac = Campo Cacique y rum = Reserva Uso Múltiple "El Estero".

	E_114	M_114	S_114	E_cac	M_cac	S_cac	E_rum	M_rum	S_rum
E_114	1								
M_114		1							
S_114		0.28	1						
E_cac	0.45			1					
M_cac		0.26	0.22		1				
S_cac		0.18	0.27		0.27	1			
E_rum	0.20			0.26			1		
M_rum		0.19			0.23			1	
S_rum		0.16	0.14		0.16	0.12		0.15	1

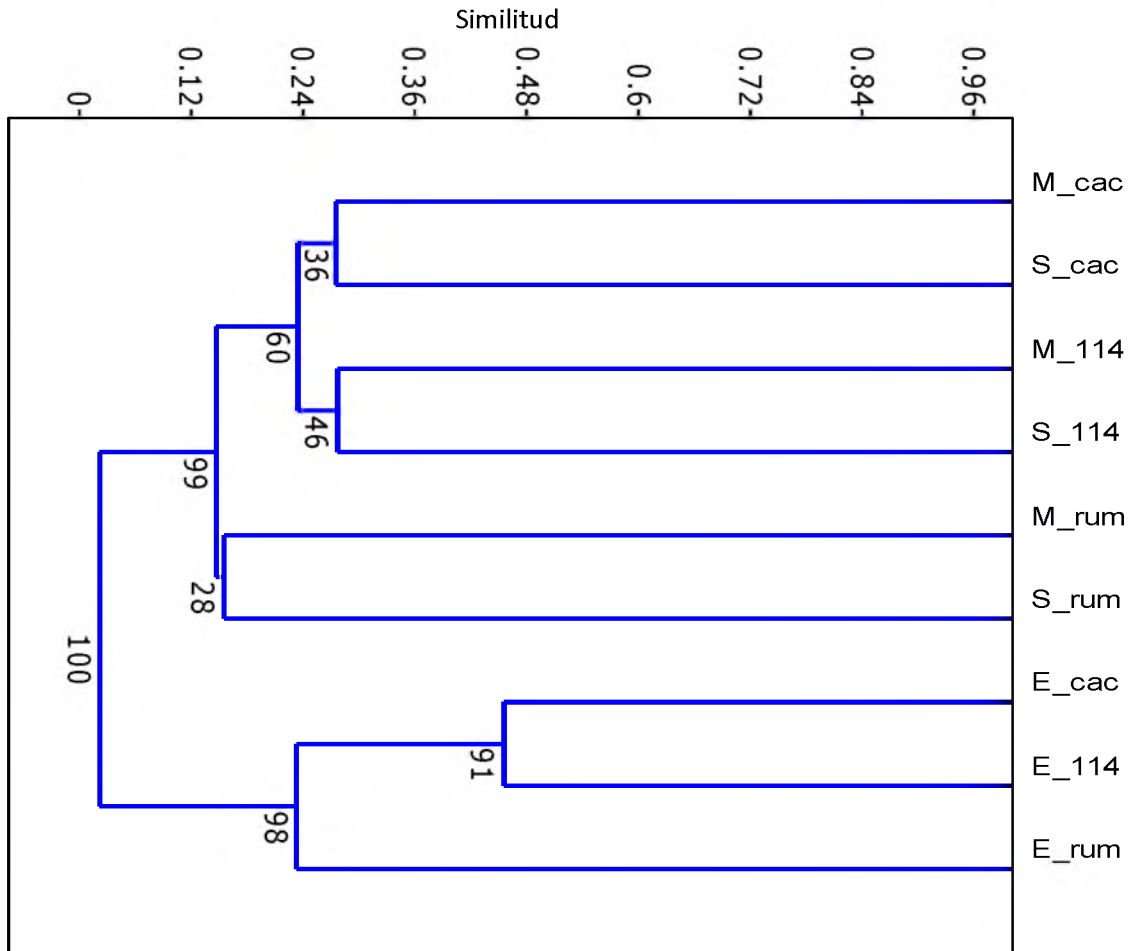


Figura 1.3: Dendrograma resultante de la comparación por similitud utilizando el coeficiente de similitud de Jaccard.

Resultados Análisis Cualitativo de los censos florísticos para el Hábitat Monte, Sabana y Embalsado en la RUM “El Estero” (Dpto. San Javier) (FIG 1.5).

En este sitio de muestreo se relevaron un total de 40 familias vegetales, 82 géneros y 93 especies. La distribución de los taxones, es mayor en el monte que en la sabana y embalsado, respectivamente (TABLA 1.2). La composición florística y estratos censados de cada unidad del hábitat considerado se detalla a continuación, resaltando las especies con mayor índice de cobertura (BRAUN-BLANQUET):

MONTE

De las transectas censadas en el Monte de la Reserva "El Estero", en el estrato arbóreo (Ar) las especies leñosas dominantes fueron: *Geoffroea decorticans*, *Fragaria rhoifolia*, *Celtis iguanaea* y *Schinus* sp., acompañadas por *Acacia praecox* y *Prosopis* sp. con coberturas mayores al 5%. El estrato arbustivo (ar) estuvo dominado por *C. iguanaea* y *Trixis praestans* o tabaquillo.

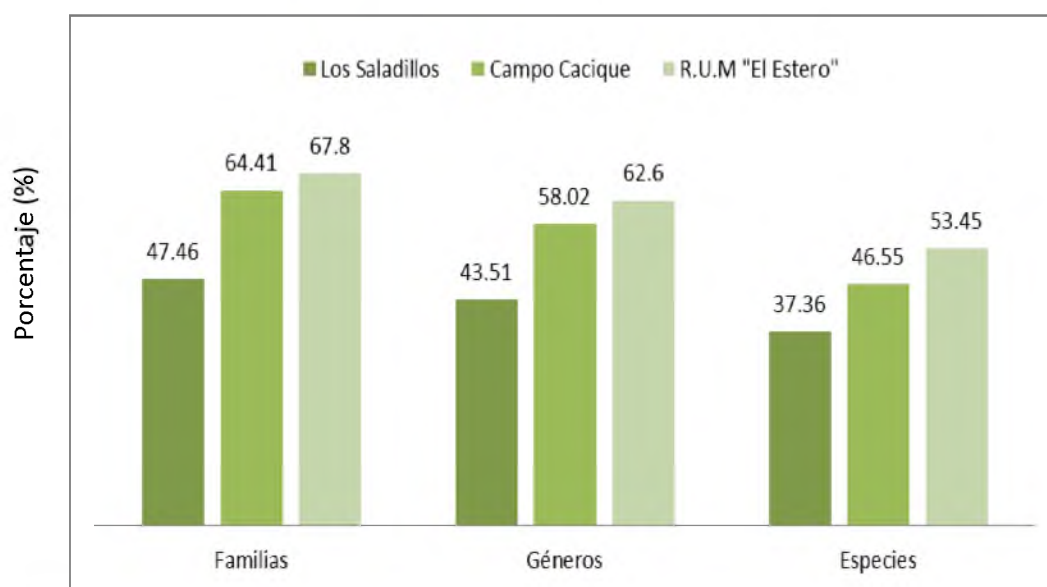


Figura 1.4: Distribución del porcentaje de las especies vegetales agrupadas a nivel Familia, Géneros y Especies en los hábitats de nidificación de *Caiman latirostris*. Valores porcentuales relativos al total general de familias (n = 50), géneros (n = 131) y especies (n = 174) censados en todos los sitios de muestreo.

Más a nivel del suelo, en el estrato herbáceo dominaron: *Desmodium incanum*, *Petiveria alliacea* y *Tradescantia fluminensis*; con una cobertura menor a las anteriores se determinaron las siguientes especies: *Cuphea aff racemosa*, *Cynodon dactylon*, *Sidha rhombifolia*, *Parietaria debilis*, *Carex bonariensis*, *Juncus* sp. y *Portulaca* sp., entre otras que están detalladas en la Tabla 1.3. El segundo estrato herbáceo más a ras del suelo, estuvo dominado por la presencia de *Oplismenus hirtellus* y *Eupatorium ivifolium*; con coberturas entre 5%-25% de un grupo de herbáceas constituidas por: *Rivinia humilis*, *Petiveria alliacea*, *Buddleja* sp., *Panicum* sp. y otro grupo (cobertura < 5%) conformado por: *Pavonia sepium*, *Malvastrum coromandelianum* y *Pycreus lanceolatus* (TABLA 1.3).

Tabla 1.2: Riquezas específicas de RUM "El Estero" (Valores porcentuales relativos al total general de cada categoría taxonómica; 50 familias, 131 géneros y 174 especies totales.) y de cada ambiente de nidificación en particular (Valores porcentuales relativos al total para este sitio de cada categoría taxonómica; 40 familias, 82 géneros y 93 especies).

R.U.M "El Estero"		Familias	Géneros	Especies
Porcentajes relativos		40	82	93
Unidades de Hábitat		Géneros	Especies	
Embalsado		15	16	
Riqueza (%)		18.29	17.20	
Monte		49	55	
Riqueza (%)		59.76	59.14	
Sabana		33	36	
Riqueza (%)		40.24	38.71	

SABANA

No se observó estrato arbóreo en esta unidad y el estrato arbustivo fue casi inexistente y en caso de censarse alguna leñosa en este ambiente se destaca la presencia de *G. decorticans*. Este ambiente se encontraba dominado por vegetación herbácea de variada composición pero con solo dos especies principalmente dominantes: *Cynodon dactylon* y *Paspalum sp.* (TABLA 1.4).

EMBALSADO

En este ambiente la vegetación herbácea presentó dos alturas bien diferenciados en su vegetación. En el estrato herbáceo (her 1) más bajo las especies que dominaron la cobertura fueron: *Digitaria sp.* y *Bacopa rotundifolia*, sigue con porcentaje menor de cobertura, pero no menos presente, *Xyris jupicai var. major*. En el estrato más alto (her 2) la especie más dominante fue *Digitaria sp.* y en orden decreciente de cobertura se determinó: *Erianthus trinitii*, *Cyperus rotundus*, *Thelypteris interrupta* (helecho) y *Erechtites hieraciifolia*, respectivamente (TABLA 1.5).

Resultados Análisis Cualitativo-Cuantitativo de los censos florísticos para el Hábitat Monte, Sabana y Embalsado en el campo "El Cacique" (FIG 1.6)

Se relevaron un total de 38 familias vegetales, 76 géneros y 81 especies. La distribución de los taxones (frecuencias porcentuales calculadas con respecto al total de Géneros y Especies del sitio campo "Cacique"), es mayor en el monte que en la sabana y embalsado, respectivamente (TABLA 1.6). La composición florística y estratos censados de cada unidad del hábitat considerado se detalla a continuación:

MONTE

En las transectas censadas en el estrato arbóreo las especies con coberturas superiores al 25% fueron, *Acacia caven*, *Prosopis sp.*, *Geoffroea decorticans* y *Celtis pallida*. Este grupo de leñosas dominantes se encontró acompañada por coberturas mayores al 5% de especies como: *Aspidosperma quebracho-blanco*, *Sapium hematospermum* y *Schinus longifolia*. En menor proporción también se censaron *Schinus molle* y *Lycium nodosum*.

El estrato arbustivo estaba compuesto por *Grabowskia duplicata*, *Lycium infaustum* y renovales de *G. decorticans* como arbustos dominantes en estas transectas. Con coberturas mayores al 5% encontramos individuos de *Trixis praestans* y *Maitenus vitis-idaea*; cubriendo en promedio menos del 5% o representados por algunos individuos, las especies determinadas fueron: *Holmbergia tweedii*, *Alloysia gratissima*, *Jodina rhombifolia* y *Lycium nodosum*.

Dentro del estrato herbáceo, se reconocen dos alturas, la más alta de aproximadamente unos 30 cm. En el primer estrato herbáceo predominan las dicotiledóneas herbáceas *Dichondra sp.* y *Salpichroa organifolia*, entre estas con una cobertura de aproximadamente 5% se censaron *Sesuvium portulacastrum*, *Plantago sp.* y *Heliotropium curassavicum*. Con unos pocos individuos (r) o de presencia ocasional (*) se hallaron también las especies detalladas en la (TABLA 1.7). Además se reconocieron algunas plantas trepadoras, representadas por 4 familias y 4 especies.

Tabla 1.6: Riquezas específicas de campo "Cacique" (Valores porcentuales relativos al total general de cada categoría taxonómica; 50 familias, 131 géneros y 174 especies totales) y de cada ambiente de nidificación en particular (Valores porcentuales relativos al total para este sitio de cada categoría taxonómica; 38 familias, 76 géneros y 81 especies).

	Familias	Generos	Especies
Cacique Aracaiquin	38	76	81
Porcentajes relativos	64.41	58.02	46.55
Unidades de Hábitat	Generos	Especies	
Embalsado	8	8	
Riqueza (%)	10.53	9.88	
Monte	58	61	
Riqueza (%)	76.32	75.31	
Sabana	31	32	
Riqueza (%)	40.79	39.51	

SABANA

En las transectas censadas del hábitat de Sabana se estableció un estrato arbustivo. Las especies dominantes en este estrato son la leñosas *Acacia caven* y *Geoffroea decorticans* acompañadas por algunos individuos de otros arbustos como se detalla en la TABLA 1.8. En el estrato herbáceo las especies dominantes fueron: *Cynodon dactylon*, *Portulaca criptopetala*, *Sporobolus pyramidatus*, *Bacharis* sp., y *Ludwigia* sp.; estas últimas acompañadas por otras especies de menos cobertura, como: *Euphorbia serpens*, *Paspalum* sp., *Setaria parviflora*, *Lycium infaustum* y *Grindelia pulchella* var. *pulchella*. Otras herbáceas determinadas representadas por algunos individuos (r; *) se encuentran detalladas en la TABLA 1.8.

EMBALSADO

Dentro del hábitat que denominamos Embalsado, el estrato que está representado es un herbáceo de altura variable, aunque no se observaron diferencias en las alturas como en el embalsado anterior. Las especies dominantes dentro del mismo fueron: *Digitaria* sp. y *Fuirena robusta*; en menor proporción se censaron individuos de las especies: *Hydrocotyle* sp., *Eleocharis*

sp., *Typha latifolia*, *Ludwigia* sp., *Pycnus lanceolatus* y una compuesta conocida como *Erechtites hieraciifolia* (TABLA 1.9)

Resultados Análisis Cual-Cuantitativo de los censos florísticos para el Hábitat Monte, Sabana y Embalsado en la localidad “Los Saladillos” (Dpto. San Justo) (FIG 1.7).

En este sitio de muestreo se relevaron un total de 28 familias vegetales, 57 géneros y 65 especies. La distribución de los taxones (frecuencias porcentuales calculadas con respecto al total de Géneros y Especies del sitio “Los Saladillos”), es mayor en el monte que en la sabana y embalsado, respectivamente (TABLA 1.10). La composición florística y estratos censados de cada unidad del hábitat considerado se detalla a continuación:

MONTE

En el estrato arbóreo en el Hábitat de Monte la especie leñosa dominante fue *Acacia caven*. Otras leñosas representativas fueron: *Sapium hematospermum*, *Schinus* sp. y *Prosopis* sp. con menor cobertura y se identificaron renovales de *Geoffroea decorticans*. El estrato arbustivo acompañante estuvo dominado por renovales de *Acacia caven* y además, con una cobertura menor se determinaron individuos de las especies de *Prosopis alba* y *Celtis* sp.

Tabla 1.10: Riquezas específicas de Los Saladillos (Valores porcentuales relativos al total general de cada categoría taxonómica; 50 familias, 131 géneros y 174 especies totales) y de cada ambiente de nidificación en particular (Valores porcentuales relativos al total para este sitio, de cada categoría taxonómica; 28 familias, 57 géneros y 65 especies).

	Familias	Géneros	Especies
Los Saladillos	28	57	65
Porcentajes relativos	47.46	43.51	37.36
Unidades de Hábitat	Géneros	Species	
Embalsado	8	8	
Riqueza (%)	14.04	12.31	
Monte	40	45	
Riqueza (%)	70.18	69.23	
Sabana	28	29	
Riqueza (%)	49.12	44.62	

Dentro del estrato herbáceo censado, la flora herbácea estuvo dominada por *Cynodon dactylon* con una cobertura aproximada de 90% en las transectas. Otras especies con una cobertura promedio menor, fueron: *Malvastrum coromandelianum* y *Setaria parviflora*. Estas últimas estaban acompañadas por: *Dyckia tweediana*, *Alternanthera philoxeroides*, *Setaria parviflora*, *Sporobolus pyramidatus* y *Sida rhombifolia* (TABLA 1.11)

SABANA

En este ambiente el estrato arbóreo no está representado, pero si el estrato arbustivo que se separó cualitativamente en arbustivo 1 (arb. 1, más alto) y arbustivo 2 (arb. 2, más bajo). Uno de los estratos arbustivos (arb 1) estuvo dominado por *Acacia caven* acompañado por *Geoffroea decorticans* con menor porcentaje de cobertura. El segundo estrato arbustivo estuvo dominado por el arbusto *Sesbania virgata* y algunos individuos de *Lycium infaustum*. Entre estos arbustos el estrato herbáceo censado también presentó dos alturas, uno de ellos, dominado por *Malvastrum coromandelianum* y *Alternanthera philoxeroides*. Entre las herbáceas de menor altura se determinaron como dominantes *Cynodon dactylon* y con menor cobertura *Setaria parviflora*, acompañadas por otras especies raras o con pocos individuos que se encuentran detalladas en la TABLA 1.12.

EMBALSADO

Dentro de la vegetación flotante, en este ambiente, se establecieron también cualitativamente dos alturas para las herbáceas que lo constituyen. Uno de los estratos herbáceos (her 1) estuvo dominado en cobertura por *Luziola peruviana* y *Digitaria* sp., además de *Hydrocotyle* sp. El estrato más alto, (her 2) estuvo cubierto en mayor porcentaje por *Typha latifolia* (TABLA 1.13).

1.5 DISCUSIÓN

Considerando los resultados obtenidos en lo que a la riqueza de especies refiere para todos los sitios censados, la Reserva de Uso Múltiple (RUM) "El Estero" tiene los valores de riqueza más elevados con respecto a los otros dos

sitios. Estos valores son coincidentes con el trabajo de HILGERT ET AL. 2003, donde explican que en la provincia de Santa Fe es importante el gradiente latitudinal, ya que la riqueza florística y complejidad aumenta hacia el norte, aunque en la unidad de monte de la RUM "El Estero" la riqueza de especies es ligeramente menor con respecto a la unidad de monte de campo "Cacique", este último ubicado un poco más al sur. Esta diferencia puede ser consecuencia de las especies que solo se determinaron a nivel de género, lo cual contribuye a subestimar la riqueza de especies de cada lugar. Además, para todos los lugares la riqueza florística disminuye desde el monte hacia los embalsados, con valores intermedios en las zonas que denominamos sabanas. Esto es coincidente con la fisonomía del monte que por definición es una unidad más estratificada y compleja en composición que las zonas denominadas sabanas.

De acuerdo a las especies censadas en la unidad de monte de la RUM "El Estero" es coincidente con la descripción de la región de los espinillares de los géneros de *Acacia* y *Prosopis* (Región IV según RAGONESE 1941) encontrándose además, individuos de las especies *Grabowskia* y *Schinus* descritos también para esta región. Este estrato arbóreo alterna con pastos típicos de las praderas de pastos tiernos (Región III según RAGONESE 1941) los cuales son hallados en las zonas más elevadas del terreno. Estos bosques tienen una fuerte influencia de la ecorregión Delta e Islas del Paraná, lo cual introduce en su composición florística especies típicas de esta ecorregión pero siguen siendo bosques más pobres en especies, típicos de las regiones de los afluentes del Paraná. Las enredaderas y epífitas son descritas como típicas de los bosques de espinillo (Región III y IV). Las zonas que denominamos Sabanas, en sentido amplio, son zonas equivalentes a las praderas con pastos tiernos descritas para la región III por RAGONESE (1941). Es una zona con menor estratificación que el monte donde se censaron algunos individuos dispersos de *Acacia caven* y donde la vegetación herbácea forma un césped denso. Estas unidades de hábitats son transicionales entre la unidad de monte (*sensu lato*) y embalsados.

La unidad de hábitat "monte" del campo "Cacique" se corresponde con la descripción para las Isletas de Bosque (RAGONESE 1941), son comunidades

arbóreas y/o arbustivas que se observan en forma bastante constante en las sabanas descritas en la Región I. Las especies censadas para esta tesis coinciden ampliamente con las de la literatura excepto por que no se han hallado individuos de *Trithrinax campestris* (palmas) en nuestros censos de estas zonas. Las unidades de sabanas coinciden en descripción con las abras (Región II) en los lugares donde están más degradadas por acción del pastoreo y/o desmonte y en las zonas en recuperación (sin la presión del ganado) tiene una composición muy similar a las praderas de pastos tiernos (Región III) y a su vez las especies herbáceas forman un césped más elevado y denso. La mayor presencia de *Prosopis sp.* en esta zona sugiere suelos más pesados y secos (LEWIS ET AL. 1994, 2006).

La unidad de monte de la zona Los Saladillos se ajusta a la descripción de los Espinillares de la Región III con menor representación del género *Prosopis sp.* y acompañado por herbáceas típicas de esos espinillares. Como se explicó anteriormente, son bosques bajos compuestos en su mayoría por especies arbóreas y arbustivas xerófilas. Las zonas de sabanas son similares a las descritas como sabanas de *Elionorus* y las especies arbustivas que allí se censaron coinciden con las especies que se encuentran descritas para los espinillares. En general los estratos herbáceos estuvieron dominados por *Cynodon dactylon* que es una herbácea exótica naturalizada utilizada para el forrajeo (LEWIS ET AL. 1994). En los estratos arbustivos de todos los sitios fue común censar renovales de las especies leñosas más abundantes en el estrato arbóreo.

La presencia en general de bosques de algarrobos (*Prosopis sp.*) y espinillares están más representados en los sitios con ubicación más al sur (Los Saladillos y campo "Cacique"), esto coincide con los resultados de HILGERT ET AL. (2003) para esa parte de la provincia. En particular los algarrobales se distribuyen en suelos menos salobres (LEWIS 1981) y también se observan en nuestros censos una presencia marcada de *Celtis pallida* que según LEWIS ET AL. (2006) va remplazando al género *Prosopis* en esas áreas. Para estas unidades (Montes y Sabanas según MONTINI ET AL. 2006) la vegetación es propia de un

chaco empobrecido (menos tropical y con inviernos más fríos) y con una fuerte influencia de la ecorregión Delta e Islas del Paraná (HILGERT ET AL. 2003).

Los embalsados, si bien tienen valores de riqueza menores que las otras dos unidades, son hábitats particulares y con características específicas en cuanto a las especies vegetales que los componen que les permiten su adaptación a estos ambientes acuáticos (NEIFF 2004) y por tanto, es coherente que la similitud en la composición de estas unidades sea un poco más elevada entre ellos y se agrupen en una rama aparte.

Los embalsados de los tres sitios de muestreo son islas flotantes de distintas especies vegetales, con suelos turbosos sobre cuerpos de agua y esas aguas se denominan "agua negras" (NEIFF 2004). Sustentan distintas comunidades vegetales en distintas etapas de sucesión, por su composición el embalsado de campo "Cacique" se encuentra en la etapa dominada por *Fuirena robusta* (zainal) lo que produce una mayor consolidación del suelo flotante a la vez que genera un microclima con una menor circulación de aire. Tanto en el embalsado de RUM "El Estero" como en el embalsado del campo "Cacique" se censaron especies vegetales que son típicas de suelos flotantes con mayor consolidación y son especies con sistemas radiculares que les permiten aumentar la sustentación precaria a esos suelos orgánicos. Además estas especies como *F. robusta*, *Cyperus* sp., *Typha latifolia*, *Digitaria* sp. indican un embalsado con mayor edad y más estable a las variaciones hidrológicas (NEIFF 2004).

El embalsado de Los Saladillos por su composición florística es más inestable ya que las especies que lo componen son típicas de embalsados en las primeras etapas de sucesión o un embalsado con un régimen de fuego más elevado. Especies como *Typha latifolia*, con valores más elevados de cobertura en el estrato más alto de este embalsado, permite menor variabilidad durante el día de la temperatura del aire y el agua (NEIFF 2004). A su vez es una especie geófila pirófila que está más adaptada a este tipo de factor limitante para el desarrollo de las comunidades vegetales del embalsado. Además especies como *Luziola peruviana*, *Digitaria* sp. e *Hydrocotyle* sp. (censadas en este sitio de

muestreo) forman rápidamente un gramillar hidrófilo que alcanza una cobertura continua en poco tiempo. Estas especies permiten inferir que este embalsado posee un menor proceso de consolidación que el resto de los embalsados (NEIFF 2004).

Mas allá de la diferencia en el estado de consolidación o estabilidad de los embalsados estos guardan grandes similitudes con los embalsados de la provincia de corrientes, por lo que estos ambientes serían homogéneos a la largo de un gradiente latitudinal (NEIFF 2004).

En síntesis, los resultados obtenidos en este capítulo permitieron caracterizar, de manera detallada, la composición florística de cada uno de los ambientes utilizados por *Caiman latirostris* para la nidificación. Esta información permitió renombrar los sitios de muestreo considerados como: monte, sabana y/o embalsado sensu lato según la propuesta de RAGONENSE (1941). De esta forma el monte de RUM "El Estero" corresponde a un Espinillar de la región IV alternando con praderas de la región III, la sabana de este mismo sitio correspondería a las praderas descritas para la región III y el embalsado conserva las mismas características que el resto de los embalsados, por lo tanto se puede seguir llamando a ese sitio de nidificación con ese nombre. El monte de campo "Cacique" correspondería por su composición florística a isletas de bosques de la región I y la sabana es semejante a las abras de la región II alternando con praderas de la región III. Asimismo, el monte de Los Saladillos es un Espinillar típico de la región III y sus sabanas son similares a las sabanas de *Elionorus* de la región I. Además, una caracterización florística detallada es de vital importancia a la hora de analizar la diversidad fúngica en ambientes naturales, de manera que éstas permitirán obtener información específica sobre los hospederos vegetales que actúan como sustrato para el desarrollo de los hongos o son fuente de origen de los mismos.

ANEXOS



Capítulo 1

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.3: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Monte, en el Departamento San Javier (Reserva de Uso Múltiple "El Estero"), Provincia de Santa Fe. A: Estrato Arbóreo; ar: Estrato Arbustivo; her 1: Estrato herbáceo 12 cm altura promedio; her 2: Estrato herbáceo 53 cm altura promedio y enr: enredaderas. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Fabaceae	<i>Prosopis</i> sp. L.	Ar	6,17	1
Fabaceae	<i>Acacia praecox</i> Griseb.	Ar	6,17	1
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	Ar	6,17	2
Fabaceae	<i>Fagara rhoifolia</i> (Lam.) Engl.	Ar	6,17	2
Celtidaceae	<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	Ar	6,17	2
Celtidaceae	<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	Ar	2,33	2
Asteraceae	<i>Trixis praestans</i> (Vell.) Cabrera	Ar	2,33	2
Malvaceae	<i>Schinus</i> sp.	Ar	6,17	2
Apocynaceae	<i>Aspidosperma quebracho blanco</i> Schlttdl.	Ar	6,17	*
Celtidaceae	<i>Celtis pallida</i> Torr.	Ar	2,33	*
Caricaceae	<i>Carica quercifolia</i> (A. St.-Hil.) Hieron.	Ar	6,17	*
Meliaceae	<i>Melia azederach</i> L.	Ar	6,17	r
Fabaceae	<i>Acacia praecox</i> Griseb.	Ar	2,33	r
Bromeliaceae	<i>Tillandsia tricholepis</i> Baker	Enr		*
Polygonaceae	<i>Muehlenbeckia sagittifolia</i> (Ortega) Meisn.	Enr		r
Bignoniaceae	<i>Dolichandra cynanchoides</i> Cham.	Enr		1
Fabaceae	<i>Desmodium incanun</i> DC	her 1	0,12	2
Lythraceae	<i>Cuphea</i> sp.	her 1	0,12	1
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	her 1	0,12	1
Malvaceae	<i>Sidha rombhifolia</i> L.	her 1	0,12	1

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris***Tabla 1.3:** Continuación

Urticaceae	<i>Parietaria debilis</i> G. Forst	her 1	0,12	1
Cyperaceae	<i>Carex bonariensis</i> Desf. ex Poir.	her 1	0,12	1
Juncaceae	<i>Juncus</i> sp.	her 1	0,12	1
Portulacaceae	<i>Portulaca</i> sp.	her 1	0,12	1
Phytolaccaceae	<i>Petiveria alliaceae</i> L.	her 1	0,12	2
Commelinaceae	<i>Tradescantia fluminensis</i> Vell.	her 1	0,12	2
Lamiaceae	<i>Scutellaria racemosa</i> Pers.	her 1	0,12	*
Cyperaceae	<i>Carex sellowiana</i> Schldt.	her 1	0,12	*
Cyperaceae	<i>Fimbristylis autmnalis</i> (L.) Roem & Schult	her 1	0,12	*
Verbenaceae	<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene	her 1	0,12	*
Commelinaceae	<i>Tradescantia</i> sp.	her 1	0,12	*
Convolvulaceae	<i>Dichondra sericeae</i> Sw.	her 1	0,12	r
Cactaceae	<i>Rhipsalis lumbricoides</i> (Lem.) Lem. ex Salm-Dyck	her 1	0,12	r
Polypodiaceae	<i>Microgramma</i> sp.	her 1	0,12	r
Poaceae	<i>Setaria fiebrigii</i> R.A.W. Herrm.	her 1	0,12	r
Malvaceae	<i>Pavonia sepium</i> A. St.-Hil.	her 2	0,53	1
Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke	her 2	0,53	1
Cyperaceae	<i>Pycnus lanceolatus</i> (Poir.) C.B. Clarke	her 2	0,53	1
Phytolaccaceae	<i>Petiveria alliaceae</i> L.	her 2	0,53	2
Phytolaccaceae	<i>Rivinia humilis</i> L.	her 2	0,53	2
Buddlejaceae	<i>Budleja</i> sp.	her 2	0,53	2
Poaceae	<i>Panicum</i> sp.	her 2	0,53	2
Poaceae	<i>Oplismenus hirtellus</i> (L.) P. Beauv.	her 2	0,53	3
Asteraceae	<i>Eupatorium ivifolium</i> L.	her 2	0,53	3
Asteraceae	<i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	her 2	0,53	*

Tabla 1.3: Continuación

Lamiaceae	<i>Scutellaria racemosa</i> Pers.	her 2	0,53	*
Solanaceae	<i>Vassobia breviflora</i> (Sendtn.) Hunz.	her 2	0,53	*
Asteraceae	<i>Coniza</i> sp. Less.	her 2	0,53	*
Lamiaceae	<i>Teucrium</i> sp.	her 2	0,53	*
Asteraceae	<i>Bidens</i> sp.	her 2	0,53	*
Solanaceae	<i>Solanum</i> sp.	her 2	0,53	*
Urticaceae	<i>Urtica</i> sp.	her 2	0,53	*
Solanaceae	<i>Salpichroa organifolia</i> (Lam.) Baill.	her 2	0,53	*
Cyperaceae	<i>Pycreus</i> sp.	her 2	0,53	*
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	her 2	0,53	r
Amaranthaceae	<i>Amarantus quitensis</i> Kunth	her 2	0,53	r
Asteraceae	<i>Sonchus</i> sp.	her 2	0,53	r
Solanaceae	<i>Physalis viscosa</i> L.	her 2	0,53	r
Asteraceae	<i>Chaptalia nutans</i> (L.) Pol.	her 2	0,53	r

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.4: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Sabana, en el Departamento San Javier (Reserva de Uso Múltiple "El Estero"), Provincia de Santa Fe. *ar*: Estrato Arbustivo; *her 1*: Estrato herbáceo 5 cm altura promedio; *her 2*: Estrato herbáceo 37 cm altura promedio y *enr*: enredaderas. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	ar	1,6	*
Bromeliaceae	<i>Tillandsia recurvata</i> (Gaudich.) Baker	enr		*
Bromeliaceae	<i>Tillandsia tricholepis</i> Baker	enr		r
Ranunculaceae	<i>Clematis montevidensis</i> Spreng.	enr		r
Polygonaceae	<i>Muehlenbeckia sagittifolia</i> (Ortega) Meisn.	enr		r
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	her 1	0,05	4
Convolvulaceae	<i>Dichondra sericeae</i> Sw.	her 1	0,05	*
Juncaceae	<i>Juncus</i> sp.	her 1	0,05	*
Calyceraceae	<i>Acicarpha tribuloides</i> Juss.	her 1	0,05	*
Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> sp.	her 1	0,05	*
Fabaceae	<i>Aeschynomene</i> sp.	her 1	0,05	*
Brassicaceae	<i>Lepidium</i> sp.	her 1	0,05	*
Poaceae	<i>Eleusine</i> sp.	her 1	0,05	r
Plantaginaceae	<i>Plantago</i> sp.	her 1	0,05	r
Poaceae	<i>Paspalum</i> L. sp.	her 2	0,37	1
Cyperaceae	<i>Cyperus</i> L.	her 2	0,37	*
Solanaceae	<i>Salpichroa organifolia</i> (Lam.) Baill.	her 2	0,37	*
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	her 2	0,37	*
Malvaceae	<i>Sidha rombhifolia</i> L.	her 2	0,37	*
Poaceae	<i>Paspalum notatum</i> Flügge	her 2	0,37	*
Polygonaceae	<i>Polygonum punctatum</i> Elliot	her 2	0,37	*
Asteraceae	<i>Eupatorium ivifolium</i> L.	her 2	0,37	r

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Calman latirostris***Tabla 1.4:** Continuación

Solanaceae	<i>Vassobia breviflora</i> (Sendtn.) Hunz.	her 2	0,37	r
Asteraceae	<i>Vernonia incana</i> Less.	her 2	0,37	r
Acanthaceae	<i>Dicliptera tweidiana</i> (<i>squarrosa</i> ?)	her 2	0,37	r
Verbenaceae	<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene	her 2	0,37	r
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp.	her 2	0,37	r
Apiaceae	<i>Hydrocotyle</i> sp.	her 2	0,37	r
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp.	her 2	0,37	r
Asteraceae	<i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera	her 2	0,37	r
Verbenaceae	<i>Verbena</i> sp.	her 2	0,37	r
Verbenaceae	<i>Verbena intermedia</i> Gillies & Hook. ex Hook.	her 2	0,37	r
Asteraceae	<i>Enydra anagallis</i> Gardner	her 2	0,37	r
Asteraceae	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	her 2	0,37	r
Iridaceae	<i>Sisyrinchium</i> sp.	her 2	0,37	r
Solanaceae	<i>Nicotiana longiflora</i> Cav.	her 2	0,37	r
Apiaceae	<i>Eryngium coronatum</i> Hook. & Arn.	her 2	0,37	r

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.5: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Embalsado, en el Departamento San Javier (Reserva de Uso Múltiple El Estero), Provincia de Santa Fe. *her 1*: Estrato herbáceo 23 cm altura promedio y *her 2*: Estrato herbáceo 80 cm altura promedio. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura Vegetal (Braun-Blanquet)
Xyridaceae	<i>Xyris jupicai</i> var. <i>Major</i> (Mart.) L.B. Sm. & Downs	her 1	0,23	1
Poaceae	<i>Digitaria</i> sp.	her 1	0,23	3
Plantaginaceae	<i>Bacopa rotundifolia</i> (Michx.) Wettst.	her 1	0,23	3
Begoniaceae	<i>Begonia cucullata</i> Willd.	her 1	0,23	*
Thelypteridaceae	<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) K. Iwats.	her 1	0,23	*
Cyperaceae	<i>Pycreus lanceolatus</i> (Poir.) C.B. Clarke	her 1	0,23	*
Briofitas	<i>Musgos</i>	her 1	0,23	r
Briofitas	<i>Hepática</i>	her 1	0,23	r
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp. (L.)	her 1	0,23	r
Thelypteridaceae	<i>Thelypteris interrupta</i> (Willd.) K. Iwats.	her 2	0,8	1
Asteraceae	<i>Erechtites hieraciifolius</i> (L.) Raf. ex DC.	her 2	0,8	1
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i> L.	her 2	0,8	2
Poaceae	<i>Erianthus trinii</i> (Hack.) Hack.	her 2	0,8	3
Poaceae	<i>Digitaria</i> sp.	her 2	0,8	4
Typhaceae	<i>Typha latifolia</i> L.	her 2	0,8	*
Cyperaceae	<i>Cyperus odoratus</i> L.	her 2	0,8	*
Asteraceae	<i>Coniza</i> sp. Less.	her 2	0,8	*
Cyperaceae	<i>Schenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	her 2	0,8	r

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.7: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Monte, en el Departamento San Justo (Localidad: Cacique Ariacaiquín), Provincia de Santa Fe. *Ar*: Estrato Arbóreo; *ar*: Estrato Arbustivo; *her 1*: Estrato herbáceo 10 cm altura promedio; *her 2*: Estrato herbáceo 36 cm altura promedio y *enr*: enredaderas.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Fabaceae	<i>Prosopis</i> L. sp	Ar	6,33	2
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	Ar	6,33	2
Apocynaceae	<i>Aspidosperma quebracho blanco</i> Schltldl.	Ar	6,33	1
Fabaceae	<i>Acacia caven</i> Griseb.	Ar	6,33	3
Celtidaceae	<i>Celtis pallida</i> Torr.	Ar	6,33	2
Euphorbiaceae	<i>Sapium hematospermum</i> Müll. Arg.	Ar	6,33	1
Anacardiaceae	<i>Schinus longifolia</i> (Lindl.) Speg.	Ar	6,33	1
Anacardiaceae	<i>Schinus molle</i> L.	Ar	6,33	*
Solanaceae	<i>Lycium nodosum</i> Miers	Ar	6,33	r
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	ar	2,42	2
Asteraceae	<i>Trixis praestans</i> (Vell.) Cabrera	ar	2,42	1
Solanaceae	<i>Grabowskia duplicata</i> Arn.	ar	2,42	2
Chenopodiaceae	<i>Holmbergia tweedii</i> (Moq.) Speg.	ar	2,42	*
Verbenaceae	<i>Aloysia gratissima</i> (Gillies & Hook. ex Hook.) Tronc.	ar	2,42	*
Cervantesiaceae	<i>Jodina rhombifolia</i> (Hook. & Arn.) Reissek	ar	2,42	*
Solanaceae	<i>Lycium nodosum</i> Miers	ar	2,42	r

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris***Tabla 1.7:** Continuación

Solanaceae	<i>Lycium infaustum</i> Miers	ar	2,42	2
Celastraceae	<i>Maytenus vitis-idaea</i> Griseb.	ar	2,42	1
Apocynaceae	<i>Araujia angustifolia</i> (Hook. & Arn.) Decne.	enr		r
Basellaceae	<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis	enr		r
Herreriaceae	<i>Herreria</i> sp.	enr		*
Bromeliaceae	<i>Tillandsia tricholepis</i> Baker	enr		*
Fabaceae	<i>Desmodium incanun</i> DC	her 1	0,1	*
Asteraceae	<i>Bacharis artemisioides</i> Hook. & Arn.	her 1	0,1	*
Commelinaceae	<i>Commelina</i> sp.	her 1	0,1	*
Convolvulaceae	<i>Dichondra</i> sp.	her 1	0,1	2
Apiaceae	<i>Eryngium coronatum</i> Hook. & Arn.	her 1	0,1	*
Solanaceae	<i>Salpichroa organifolia</i> (Lam.) Baill.	her 1	0,1	2
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	her 1	0,1	*
Malvaceae	<i>Sidha rombhifolia</i> L.	her 1	0,1	*
Aizoaceae	<i>Sesuvium portulacastrum</i> (L.) L.	her 1	0,1	r
Plantaginaceae	<i>Plantago</i> sp.	her 1	0,1	r
Cyperaceae	<i>Carex bonariensis</i> Desf. ex Poir.	her 1	0,1	*
Amaryllidaceae	<i>Zephyrantes candida</i> (Herb. ex Lindl.) Herb.	her 1	0,1	*
Selaginellaceae	<i>Selaginella</i> sp.	her 1	0,1	*
Boraginaceae	<i>Heliotropium curassavicum</i> L.	her 1	0,1	r
Commelinaceae	<i>Tradescantia fluminensis</i> Vell.	her 1	0,1	*
Cactaceae	<i>Rhipsalis lumbricoides</i> (Lem.) Lem. ex Salm-Dyck	her 1	0,1	*
Polypodiaceae	<i>Microgramma</i> sp.	her 1	0,1	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris***Tabla 1.7:** Continuación

Talinaceae	<i>Talinum</i> sp.	her 2	0,36	*
Asteraceae	<i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	her 2	0,36	1
Asteraceae	<i>Bacharis artemisioides</i> Hook. & Arn.	her 2	0,36	r
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	her 2	0,36	3
Cyperaceae	<i>Cyperus</i> L.	her 2	0,36	*
Asteraceae	<i>Eupatorium ivifolium</i> L.	her 2	0,36	1
Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke	her 2	0,36	*
Poaceae	<i>Paspalum</i> L. sp.	her 2	0,36	*
Lamiaceae	<i>Scutellaria racemosa</i> Pers.	her 2	0,36	*
Poaceae	<i>Sporobolus pyramidatus</i> (Lam.) Hitchc.	her 2	0,36	2
Solanaceae	<i>Vassobia breviflora</i> (Sendtn.) Hunz.	her 2	0,36	*
Asteraceae	<i>Vernonia incana</i> Less.	her 2	0,36	*
Cactaceae	<i>Harrisia</i> sp.	her 2	0,36	*
Cactaceae	<i>Cleistocactus</i> sp.	her 2	0,36	r
Acanthaceae	<i>Dicliptera squarrosa</i> Ness	her 2	0,36	r
Gesneriaceae	<i>Sinningia tubiflora</i> (Hook.) Fritsch	her 2	0,36	2
Poaceae	<i>Panicum</i> sp.	her 2	0,36	r
Malvaceae	<i>Cienfuegosia argentina</i> Gürke	her 2	0,36	*
Cucurbitaceae	<i>Cayaponia bonariensis</i> (Mill.) Mart.Crov	her 2	0,36	*
Lamiaceae	<i>Hyptis</i> sp.	her 2	0,36	*
Malpighiaceae	<i>Stigmaphyllon bonariensis</i> (Hook. & Arn.) C. E. Anderson	her 2	0,36	r
Poaceae	<i>Chloris</i> sp.	her 2	0,36	*

Tabla 1.7: Continuación

Poaceae	<i>Setaria fiebrigii</i> R.A.W. Herrm.	her 2	0,36	1
Cactaceae	<i>Opuntia</i> sp.	her 2	0,36	r
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium</i> sp.	her 2	0,36	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.8: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Sabana, en el Departamento San Justo (Localidad: Cacique Ariacaiquin), Provincia de Santa Fe. *ar*: Estrato Arbustivo; *her 1*: Estrato herbáceo 18,33 cm altura promedio y *her 2*: Estrato herbáceo 18 cm altura promedio. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Fabaceae	<i>Prosopis</i> L. sp	ar	2,75	*
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	ar	2,75	1
Fabaceae	<i>Acacia caven</i> Griseb.	ar	2,75	2
Achatocarpaceae	<i>Achatocarpus praecox</i> Griseb.	ar	2,75	*
Solanaceae	<i>Grabowskia duplicata</i> Arn.	ar	2,75	*
Chenopodiaceae	<i>Holmbergia tweedii</i> (Moq.) Speg.	ar	2,75	*
Sclerophylacaceae	<i>Sclerophilax spinescens</i> Miers	her 1	0,18	r
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	her 1	0,18	4
Aizoaceae	<i>Sesuvium portulacastrum</i> (L.) L.	her 1	0,18	*
Plantaginaceae	<i>Plantago</i> sp.	her 1	0,18	r
Selaginellaceae	<i>Selaginella</i> sp.	her 1	0,18	r
Poaceae	<i>Hordeum stenostachys</i> Godr.	her 1	0,18	*
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia serpens</i> Kunth	her 1	0,18	1
Portulacaceae	<i>Portulaca cryptopetala</i> Speg.	her 1	0,18	2
Poaceae	<i>Sporobolus pyramidatus</i> (Lam.) Hitchc	her 2	0,18	2
Asteraceae	<i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	her 1	0,18	*
Asteraceae	<i>Bacharis artemisioides</i> Hook. & Arn.	her 1	0,18	*
Cyperaceae	<i>Cyperus</i> sp. L.	her 1	0,18	r
Apiaceae	<i>Eryngium coronatum</i> Hook. & Arn.	her 1	0,18	r

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris***Tabla 1.8:** Continuación

Poaceae	<i>Paspalum</i> L. sp.	her 1	0,18	1
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguelén	her 1	0,18	1
Cactaceae	<i>Harrisia</i> sp.	her 1	0,18	*
Poaceae	<i>Chloris</i> sp.	her 1	0,18	*
Solanaceae	<i>Lycium infaustum</i> Miers	her 1	0,18	1
Cactaceae	<i>Opuntia</i> sp.	her 1	0,18	*
Asteraceae	<i>Bacharis</i> sp.	her 1	0,18	2
Cactaceae	<i>Stetsonia</i> sp.	her 1	0,18	*
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp.	her 1	0,18	2
Asteraceae	<i>Pterocaulon virgatum</i> (L.) DC.	her 1	0,18	*
Solanaceae	<i>Physalis viscosa</i> L.	her 1	0,18	*
Asteraceae	<i>Grindelia pulchella</i> Dunal var. <i>pulchella</i>	her 1	0,18	1
Asteraceae	<i>Gaillardia megapotamica</i> (Spreng.) Baker var. <i>Megapotamica</i>	her 1	0,18	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.9: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Embalsado, en el Departamento San Justo (Localidad: Cacique Ariacaiquin), Provincia de Santa Fe. *her 1*: Estrato herbáceo 50 cm altura promedio. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estrato	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Apiaceae	<i>Hydrocotyle</i> sp.	her 1	0,5	2
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp.	her 1	0,5	1
Cyperaceae	<i>Eleocharis</i> sp.	her 1	0,5	2
Cyperaceae	<i>Pycnus lanceolatus</i> (Poir.) C.B. Clarke	her 1	0,5	1
Poaceae	<i>Digitaria</i> sp.	her 1	0,5	4
Asteraceae	<i>Erechtites hieraciifolia</i> (L.) Raf. ex DC.	her 1	0,5	1
Cyperaceae	<i>Fuirena robusta</i> Kunth.	her 1	0,5	3
Typhaceae	<i>Typha latifolia</i> L.	her 1	0,5	2

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.11: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Monte, en el Departamento San Justo (Localidad: Los Saladillos), Provincia de Santa Fe. *Ar*: Estrato arbóreo; *ar*: Estrato Arbustivo; *her*: Estrato herbáceo. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Fabaceae	<i>Prosopis</i> sp. L.	Ar	7	*
Fabaceae	<i>Prosopis alba</i>	Ar	7	2
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	Ar	7	1
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca dioica</i> L.	Ar	7	*
Fabaceae	<i>Acacia caven</i> Griseb.	Ar	7	3
Celtidaceae	<i>Celtis pallida</i> Torr.	Ar	7	*
Euphorbiaceae	<i>Sapium hematospermum</i> Müll. Arg.	Ar	7	2
Solanaceae	<i>Grabowskia duplicata</i> Arn.	Ar	7	*
Malvaceae	<i>Schinus</i> sp.	Ar	7	2
Solanaceae	<i>Lycium infaustum</i> Miers.	Ar	7	r
Fabaceae	<i>Prosopis</i> sp. L.	ar	3	r
Fabaceae	<i>Prosopis alba</i>	ar	3	1
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	ar	3	*
Fabaceae	<i>Acacia caven</i> Griseb.	ar	3	2
Achatocarpaceae	<i>Achatocarpus praecox</i> Griseb.	ar	3	r
Celtidaceae	<i>Celtis</i> sp.	ar	3	1
Celtidaceae	<i>Celtis pallida</i> Torr.	ar	3	*
Asteraceae	<i>Trixis praestans</i> (Vell.) Cabrera	ar	3	r
Solanaceae	<i>Grabowskia duplicata</i> Arn.	ar	3	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris***Tabla 1.11:** Continuación

Chenopodiaceae	<i>Holmbergia tweedii</i> (Moq.) Speg.	ar	3	*
Malvaceae	<i>Schinus</i> sp.	ar	3	*
Solanaceae	<i>Lycium infaustum</i> Miers.	ar	3	*
Poaceae	<i>Stipa</i> sp.	her	0,26	*
Poaceae	<i>Eriochloa</i> sp.	her	0,26	1
Talinaceae	<i>Talinum</i> sp.	her	0,26	*
Polypodiaceae	<i>Microgramma</i> C. Presl sp.	her	0,26	r
Cactaceae	<i>Rhipsalis</i> sp.	her	0,26	r
Asteraceae	<i>Vernonia incana</i> Less.	her	0,26	r
Convolvulaceae	<i>Dichondra seriseae</i>	her	0,26	1
Lamiaceae	<i>Hyptis</i> sp.	her	0,26	r
Phytolaccaceae	<i>Rivinia humilis</i> L.	her	0,26	r
Basellaceae	<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis	her	0,26	*
Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke	her	0,26	2
Poaceae	<i>Gymnopogon spicatus</i> (Spreng.) Kuntze	her	0,26	1
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	her	0,26	4
Acanthaceae	<i>Dyckia tweediana</i>	her	0,26	1
Amaranthaceae	<i>Alternanthera philoxeroides</i>	her	0,26	1
Solanaceae	<i>Physalis viscosa</i> L.	her	0,26	*
Verbenaceae	<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene	her	0,26	*
Asteraceae	<i>Pluchea sagittalis</i> (Lam.) Cabrera	her	0,26	*
Asteraceae	<i>Eupatorium</i> sp.	her	0,26	*
Asteraceae	<i>Eupatorium ivifolium</i> L.	her	0,26	r
Poaceae	<i>Setaria pampeana</i>	her	0,26	1
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguélen	her	0,26	2
Poaceae	<i>Sporobolus pyramidatus</i> (Lam.) Hitchc	her	0,26	1

Tabla 1.11: Continuación

Malvaceae	<i>Sida rhombifolia</i> L.	her	0,26	1
Apiaceae	<i>Eryngium coronatum</i> Hook. & Arn.	her	0,26	r
Apiaceae	<i>Eryngium</i> aff. <i>Pandanifolium</i>	her	0,26	*
Cyperaceae	<i>Cyperus rotundus</i>	her	0,26	*
Juncaceae	<i>Juncus pallescens</i>	her	0,26	*
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium</i> sp.	her	0,26	*
Polygonaceae	<i>Muehlenbeckia sagittifolia</i> (Ortega) Meisn.	her	0,26	*
Apiaceae	<i>Hydrocotyle</i> sp.	her	0,26	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.12: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Sabana, en el Departamento San Justo (Localidad: Los Saladillos), Provincia de Santa Fe. *ar 1*: Estrato Arbustivo uno, altura promedio 3m; *ar 2*: Estrato Arbustivo dos, altura promedio 1,06 m; *her 1*: Estrato herbáceo uno, altura promedio 38 cm y *her 2*: Estrato Herbáceo dos, altura promedio 14 cm. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Fabaceae	<i>Prosopis</i> sp. L.	ar1	3	*
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	ar1	3	1
Fabaceae	<i>Acacia caven</i> Griseb.	ar1	3	2
Celtidaceae	<i>Celtis pallida</i> Torr.	ar1	3	r
Solanaceae	<i>Grabowskia duplicata</i>	ar1	3	*
Fabaceae	<i>Geoffraea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart	ar2	1,06	*
Solanaceae	<i>Grabowskia duplicata</i>	ar2	1,06	*
Fabaceae	<i>Sesbania virgata</i> (Cav.) Pers.	ar2	1,06	1
Solanaceae	<i>Lycium infaustum</i> Miers.	ar2	1,06	r
Asteraceae	<i>Baccharis artemisioides</i> Hook. & Arn.	her1	38	r
Talinaceae	<i>Talinum</i> sp.	her1	38	r
Asteraceae	<i>Vernonia incana</i> Less.	her1	38	r
Cactaceae	<i>Opuntia</i> sp.	her1	38	r
Cactaceae	<i>Harrisia</i> sp.	her1	38	r
Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke	her1	38	1
Poaceae	<i>Hordeum</i> sp.	her1	38	r
Amaranthaceae	<i>Alternanthera philoxeroides</i>	her1	38	1
Asteraceae	<i>Eupatorium</i> sp.	her1	38	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris***Tabla 1.12:** Continuación

Poaceae	<i>Paspalum</i> L. sp.	her1	38	*
Lythraceae	<i>Heimia salicifolia</i> (Kunth) Link	her1	38	r
Lamiaceae	<i>Salvia pallida</i> Benth.	her1	38	*
Apiaceae	<i>Eryngium</i> aff. <i>Pandanifolium</i>	her1	38	r
Cyperaceae	<i>Cyperus entrerrianus</i> Boeck.	her1	38	r
Marsileaceae	<i>Marsilea</i> sp. L.	her2	14	r
Asteraceae	<i>Vernonia incana</i> Less.	her2	14	*
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp.	her2	14	r
Poaceae	<i>Bromus catharticus</i> Vahl	her2	14	r
Poaceae	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	her2	14	4
Verbenaceae	<i>Phyla canescens</i> (Kunth) Greene	her2	14	*
Poaceae	<i>Setaria parviflora</i> (Poir.) Kerguelen	her2	14	1
Apiaceae	<i>Eryngium coronatum</i> Hook. & Arn.	her2	14	r
Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> sp.	her2	14	*

COMPOSICIÓN FLORÍSTICA DE LOS AMBIENTES DE NIDIFICACIÓN DE *Caiman latirostris*

Tabla 1.13: Lista de Especies vegetales censadas en el hábitat de Sabana, en el Departamento San Justo (Localidad: Los Saladillos), Provincia de Santa Fe. *her 1*: Estrato herbáceo 43,3 cm altura promedio y *her 2*: Estrato herbáceo 130 cm altura promedio. Valores de Cobertura según escala de Braun – Blanquet.

Familias (censadas)	Especies (censadas)	Estratos	Altura (m)	Cobertura (Braun-Blanquet)
Poaceae	<i>Digitaria</i> sp.	her1	43,3	4
Apiaceae	<i>Hydrocotyle</i> sp.	her1	43,3	2
Asteraceae	<i>Erechtites hieraciifolia</i> (L.) Raf. ex DC.	her1	43,3	1
Poaceae	<i>Luziola peruviana</i> Juss. ex J.F. Gmel.	her1	43,3	5
Cyperaceae	<i>Carex</i> sp.	her1	43,3	2
Onagraceae	<i>Ludwigia</i> sp.	her1	43,3	r
Typhaceae	<i>Typha latifolia</i> L.	her2	130	1
Asteraceae	<i>Coniza floribunda</i>	her2	130	*



Figura 1.5: Ambientes de Monte, Sabana y Embalsado (respectivamente) de la Reserva de Uso Múltiple "El Estero"





Figura 1.6: Ambientes de Monte, Sabana y Embalsado (respectivamente) del campo privado "El Cacique"





Figura 1.7: Ambientes de Monte, Sabana y Embalsado (respectivamente) de "Los Saladillos"



Capítulo 2

The background of the slide is a detailed illustration of a caiman in its natural habitat. The caiman is shown from a side profile, with its mouth wide open, revealing sharp teeth and a pink tongue. It is positioned in the lower right quadrant of the frame. To the left of the caiman is a large, circular nest constructed from a dense pile of dry sticks and twigs. The surrounding environment is lush with various types of green vegetation, including tall grasses and broad-leafed plants. The overall scene is set in a dark, shaded area, suggesting a dense, forested or swampy environment. The illustration style is realistic and detailed, with a focus on the textures of the caiman's scales and the surrounding flora.

Composición
florística de los
ambientes de
nidificación
de
Caiman latirostris

2.1 Caracterización florística de los nidos de *Caiman latirostris*

2.1.1 ANTECEDENTES

Caracterización de nidos de cocodrilianos y particularidades de los nidos de *C. latirostris*

Los cocodrilianos construyen dos tipos de nidos: de hueco y de montículo (THORBJARNARSON 1996). La forma de nidificación más común entre los reptiles es el nido de hueco, que consiste en una excavación en el suelo para la deposición de los huevos. En este tipo de nidos la temperatura se mantiene por insolación y por el efecto moderador que genera la arena o tierra apilada sobre los huevos. *Caiman latirostris* y los alligatóridos en general, por el contrario, construyen nidos en forma de montículo (THORBJARNARSON 1996, LARRIERA ET AL. 2008) (FIG 2.1.1). Estos últimos están constituidos de restos vegetales (hierbas, trozos de ramas, etc.), el montículo está afectado por la insolación, al igual que los nidos de hueco y por el calor metabólico que generan los embriones en desarrollo dentro de los huevos (WEBB ET AL. 1983, EWERT Y NELSON 2003). También por la fermentación del material vegetal que lo constituye (GOODWIN Y MARION 1978, MAGNUSSON ET AL. 1985), la cual es realizada en gran parte por los hongos.

Caiman latirostris construye los nidos utilizando la vegetación circundante del sitio elegido para nidificar mediante el arrastre de materiales con el cuerpo. De esta forma el material vegetal que constituye los nidos es diverso y su composición florística depende mayoritariamente del lugar donde se construye (monte, sabana o embalsado *sensu lato*). Debido a que el material vegetal en la cámara de incubación (lugar donde se depositan los huevos) está aplastado, triturado y en distinto grado de descomposición es casi imposible su determinación específica. Es por esto, que una alternativa para analizar la composición vegetal de la cámara de incubación es realizar una caracterización florística de la zona circundante al nido. En consecuencia, esto permite determinar el origen y tipo de

sustrato disponible para la comunidad fúngica que se desarrolla en las cámaras de los nidos. La diversidad taxonómica y la variedad estructural de las plantas de un área ejercen una gran influencia sobre la diversidad microfúngica de ese sitio (SEIFER ET AL. 2011).

Se ha considerado a los cocodrilidos y los alligatoridos como "ingenieros del ecosistema" porque alteran la estructura vegetativa y física del paisaje (JONES ET AL. 1994, CAMPBELL Y MAZZOTTI 2004). Un ejemplo de esta alteración es la construcción de los nidos que pueden producir un gran impacto afectando el ensamblaje de una comunidad a lo largo de un gradiente ambiental (CRAIN Y BERTNESS 2006). También pueden afectar procesos del suelo y su biogeoquímica (CARACO ET AL. 2006), alterando la disponibilidad del agua, ciclo de nutrientes, retención y erosión de sedimentos que producirían cambios en la microbiología de los sustratos (VAN BREENEN Y FINZI 1998, WRIGHT Y JONES 2006). Existen antecedentes, en otras especies de reptiles (ver en sección 2.2 "Antecedentes de la interacción Hongos y Reptiles"), donde se considera el efecto de los microorganismos (entre ellos los hongos) que están presentes en la cámara de los nidos y afectan de forma negativa el desarrollo de los huevos.

Por lo tanto, el primer paso para conocer la diversidad fúngica específica de cada ambiente de nidificación es analizar la diversidad de las plantas de cada sitio, teniendo en cuenta la heterogeneidad de los microhábitats generados por *Caiman latirostris* que establecen condiciones internas en el nido en lo que respecta a: la temperatura, la humedad y la disponibilidad de materia orgánica en descomposición propiciando un escenario óptimo para el crecimiento de los hongos.

2.1.2 OBJETIVO

- Caracterizar la vegetación circundante a los nidos de *C. latirostris* que es utilizada para la construcción de los mismos y que servirá como sustrato para el desarrollo de la micobiota.



2.1.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreos: Durante las temporadas reproductivas 2009 – 2011 se censó la flora circundante a los nidos hallados en el monte (n = 4), sabana (n = 2) y embalsado (n = 4). Los sitios de muestreo se encuentran en las siguientes ubicaciones: 30° 38' 29.29" S y 60° 17' 12.62" O (embalsado en el campo privado El Cacique = embalsado); 30° 38' 18.92" S y 60° 17' 5.82" O (monte en el campo privado El Cacique = Monte – Isletas de Bosque RIII (M-IB RIII)); 30° 42' 59.5" S y 60 17' 47.3" O (nido de monte Los Saladillos = Monte – Espinillar RIII (M-E RIII)) y 29° 56' 12.94" S y 60° 3' 43.85" O (sabana del Espín = Sabana - Praderas RIII y Abras RI (S-Pr. RIII/Ab. RI)).

Censos florísticos en los nidos: los censos de la flora circundante al nido se realizaron por medio de 3 anillos concéntricos equidistantes. En el centro de la primera transecta se ubicaron los nidos hallados, en torno a cada nido había una zona sin vegetación producto del arrastre que realizó cada hembra con el cuerpo ("zona de arrastre" = con un ancho r_1). El ancho de esa zona (distancia medida desde el borde del nido hasta el límite exterior de ese anillo sin vegetación) fue el valor en el que se incrementaron los otros anillos o transectas que fueron censadas. Es decir, la segunda superficie a muestrear resulta de la resta de la superficie del segundo círculo ($r_2 = 2 * r_1$) menos la del primer círculo, lo que deja una franja o anillo que se considera como segunda transecta. El tercer anillo o transecta, resulta ser la superficie que queda de la resta entre la superficie de este tercer círculo menos la superficie del segundo círculo (ver FIG 2.1.2).

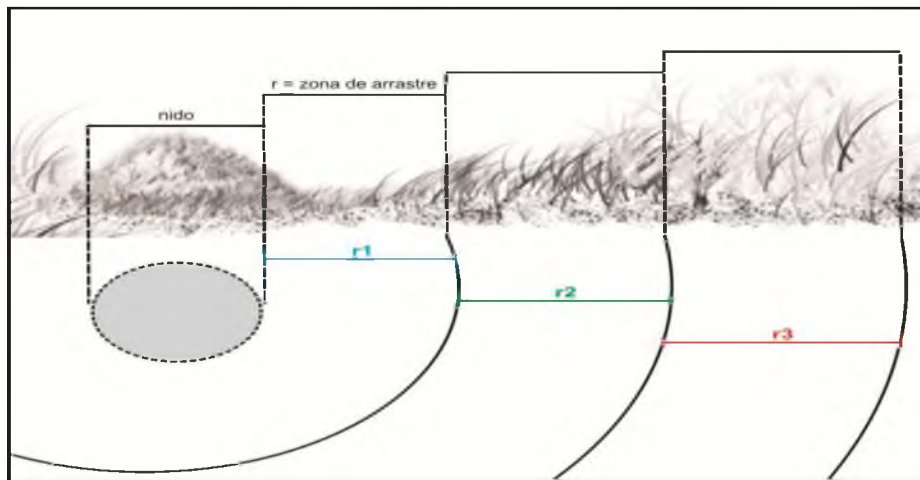


Figura 2.1.2: Esquema del aspecto en vista lateral de un nido de yacaré y la metodología de muestreo empleada.

La caracterización de la vegetación se describió a través de su estructura vertical y horizontal. Se definieron los estratos vegetales observados (arbóreo, arbustivo y herbáceo) considerando para esta clasificación la altura que presentaron las plantas (RANGEL Y VELÁSQUEZ 1997). La estructura horizontal se realizó cuantificando la presencia de las diferentes especies vegetales y su porcentaje de cobertura como el porcentaje cubierto sobre el terreno, calculado de manera subjetiva.

2.1.4 RESULTADOS

Sumando la riqueza de especies en todos los sitios censados (anillos alrededor de los nidos) se hallaron 22 géneros y 42 especies de plantas (S_{total}). La mayor cantidad especies se encuentran representadas en el sitio de nidificación de monte (M-IB RIII, M-E RIII) ($S_{monte} = 26$) y la menor riqueza se halló en la sabana (S-Pr. RIII/Ab. RI) ($S_{sabana} = 9$). Los nidos de embalsado presentaron un mayor número de especies ($S_{embalsado} = 13$) que los nidos de sabana, pero menor que los nidos de monte (FIG 2.1.3).

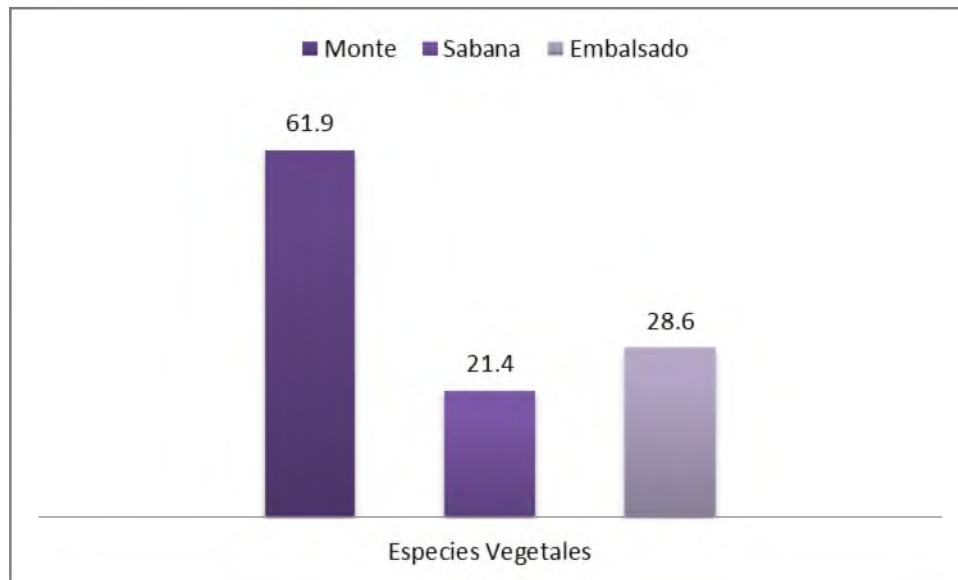


Figura 2.1.3: Gráfica de la distribución porcentual de las Especies de plantas en cada sitio de nidificación ($(S_{cada\ ambiente\ nidificación} * 100) / S_{total\ especies}$)

Nidos construidos en el hábitat de Monte (Isletas de Bosque RIII/Espinillar RIII):

Se reconocieron 25 géneros y 26 especies y se calculó el porcentaje de cobertura de estas especies en cada estrato identificado (TABLA 2.1.1). En los nidos censados, en esta unidad, se reconocieron especies vegetales dentro de dos alturas características: las más altas con alturas de 120 ± 29.4 cm (90 cm – 150 cm) y las herbáceas con una altura promedio de 51.2 ± 20.7 cm (30 cm – 80 cm).

Las zonas de arrastre, circunferencia entorno al nido, midieron en promedio 45 ± 10.8 cm (30 cm – 55 cm).

En el primer anillo, la especie arbórea en pie y dominante con cobertura mayor al 50%, fue: *Melia azedarach*; en varios nidos se determinaron algunos individuos de *Geoffroea decorticans* (Chañar). En general, al alejarnos del nido (anillo 2), se censaron: *Baccharis* sp., *Malvastrum coromandelianum*, *Muehlenbeckia sagittifolia* y *Salpichroa organifolia* con coberturas entre 20% y 35%. En las transectas más alejadas del nido (tercera transecta) se muestrearon individuos de las especies: *Canna glauca*, *Melica* sp., *Trixis praestans*, *Baccharis* sp. y *Rivina humilis*. Éstas fueron las especies herbáceas con mayor cobertura con porcentajes entre 40% y 60%. Estos nidos siempre fueron hallados al pie o muy próximos de los árboles. Éstos nunca fueron vistos en abras dentro del monte, sino bajo la sombra que proporcionan los árboles y están constituidos por restos de troncos y ramas junto con material herbáceo que fue arrastrado por la hembra. La zona de arrastre es pequeña comparada con la de los otros sitios de nidificación, como consecuencia de la fisonomía del ambiente, donde la presencia de algunos árboles limita los espacios disponibles debajo de ellos.

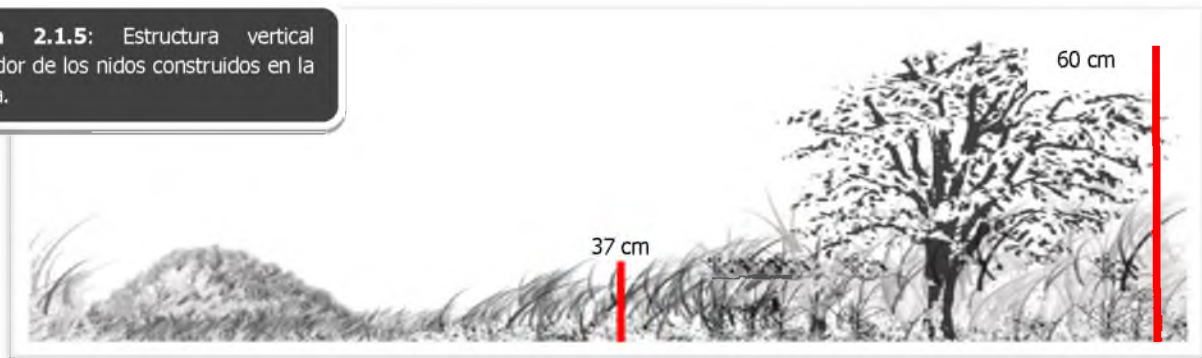


En estos nidos también se puede encontrar como componente importante la "tierra", disponible como suelo desnudo en los sitios de nidificación (FIG 2.1.4).

Nidos construidos en el hábitat de sabana (Praderas RIII/Abras RI):

En los nidos censados en esta unidad, se reconocieron especies vegetales herbáceas (6 géneros y 9 especies) (FIG. 2.1.5) dentro de dos alturas características: los más altos con alturas de 60 cm y las herbáceas con una altura promedio de 37.5 ± 10.6 cm (30 cm – 45 cm). Las zonas de arrastre, anillos alrededor de los nidos, midieron en promedio 45 ± 15 cm (35 cm – 60 cm). En la primer transecta, las especies herbáceas en pie con coberturas mayores al 50% fueron: *Cucurbitella asperata* y *Spartina* sp. En el resto de las transectas (2^{da} y 3^{ra}) la especie con mayor cobertura fue *Spartina* sp. y también se observaron algunos representantes de otras especies TABLA 2.1.2.

Figura 2.1.5: Estructura vertical alrededor de los nidos construidos en la sabana.



Nidos construidos en el hábitat de embalsado:

En los nidos censados en esta unidad, se reconocieron especies vegetales herbáceas palustres (12 géneros y 12 especies) (FIG 2.1.6) dentro de dos alturas características: los más altos con alturas de 97.5 ± 28.7 cm (60 – 120 cm) y otras herbáceas con una altura promedio de 64 ± 23.6 cm (30 cm – 80 cm). Las zonas de arrastre, circunferencia entorno al nido, midieron en promedio 98 ± 45.5 cm (50 cm – 150 cm). Las especies determinadas se pueden ver en la TABLA 2.1.3. En la primera transecta, la especie herbácea en pie presente con cobertura superior al 50% fue: *Digitaria* sp. acompañada de otras especies típicas del ambiente de embalsado. En la 2^{da} y 3^{ra} transecta las especies con mayor cobertura fueron: *Digitaria* sp., *Typha latifolia* y *Fuirena robusta*, además se censaron otras especies herbáceas que caracterizan ese ambiente.



Tabla 2.1.1: Lista de especies censadas en los nidos de monte (*sensu lato*) con su porcentaje de cobertura en cada transecta.

Familia	Especie	Transecta 1	Transecta 2	Transecta 3
Euphorbiaceae	<i>Acalypha</i> sp.			20
Asteraceae	<i>Baccharis</i> sp.	10	35	40
Cannaceae	<i>Canna glauca</i> L.		10	60
Celtidaceae	<i>Celtis</i> sp.		5	
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium</i> sp.		10	20
Asteraceae	<i>Conyza</i> sp.		1	
Convolvulaceae	<i>Dichondra</i> sp.		r	r
Acanthaceae	<i>Dicliptera tweediana</i> Nees			r
Lamiaceae	<i>Hyptis</i>	r	10	
Convolvulaceae	<i>Ipomea</i> sp.			5
Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke		30	
Malvaceae	<i>Malvastrum</i> sp.	r		10
Meliaceae	<i>Melia azedarach</i> L.	60		
Poaceae	<i>Melica</i> sp.			50
Polygonaceae	<i>Muehlenbeckia sagittifolia</i> (Ortega) Meisn.	10	20	7,5
Lauraceae	<i>Nectandra angustifolia</i> (Schrad.) Nees & Mart. ex Nees			30
Poaceae	<i>Paspalum</i> sp.			25
Phytolaccaceae	<i>Rivina humilis</i> L.			40
Solanaceae	<i>Salpichroa organifolia</i> (Lam.) Baill.		20	10
Asteraceae	<i>Aspilia</i> sp.		10	

Tabla 2.2.1: Continuación

Asteraceae	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.		10	5
Solanaceae	<i>Solanum aff. atropurpureum</i> Schrank	20		
Asteraceae	<i>Solidago chilensis</i> Meyen			10
Telipteridaceae	<i>Thelypteris</i> sp.		20	20
Asteraceae	<i>Trixis praestans</i> (Vell.) Cabrera		13,3	50
Verbenaceae	<i>Verbena</i> sp.			r

Tabla 2.1.2: Lista de especies vegetales y su porcentaje de cobertura halladas en los nidos de sabana (*sensu lato*) en cada transecta.

Familia	Especie	Transecta 1	Transecta 2	Transecta 3
Cucurbitaceae	<i>Cucurbitella asperata</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Walp.	70	10	
Malvaceae	<i>Malvastrum coromandelianum</i> (L.) Garcke			r
Cyperaceae	<i>Cyperus</i> sp.			10
Solanaceae	<i>Solanum</i> sp.			r
Poaceae	<i>Spartina</i> sp.	80	75	80
Malvaceae	<i>Sphaeralcea bonariensis</i> (Cav.) Griseb.		5	
Poaceae	<i>Paspalum</i> sp.		r	5
Poaceae	<i>Panicum</i> sp.		r	5
Convolvulaceae	<i>Dichondra</i> sp.		5	5

Tabla 2.1.3: Lista de especies vegetales censadas en los nidos de embalsado junto con los porcentajes de cobertura en cada transecta.

Familia	Especie	Transecta 1	Transecta 2	Transecta 3
Cyperaceae	<i>Carex</i> sp.		15	20
Cyperaceae	<i>Cyperus odoratus</i> L.	20		2,5
Poaceae	<i>Digitaria</i> sp.	80	70	50
Asteraceae	<i>Erechtites hieracifolia</i>		5	>5
Cyperaceae	<i>Fuirena robusta</i> Kunth	40	43	44
Juncaceae	<i>Juncus pallescens</i> Lam.		30	8,3
Onagraceae	<i>Ludwigia peploides</i> (Kunth) P.H. Raven	5	10	r
Cyperaceae	<i>Pycreus lanceolatus</i> (Poir.) C.B. Clarke		r	

Tabla 2.1.3: Continuación

Cyperaceae	<i>Schoenoplectus californicus</i> (C.A. Mey.) Soják	10	25
Asteraceae	<i>Aspilia</i> sp.	10	10
Telipteridaceae	<i>Thelypteris</i> sp.	5	
Tifaceae	<i>Typha latifolia</i> L.	40	50

2.2 Composición Micobiótica de los nidos de *Caiman latirostris*

2.2.1 Antecedentes

El conocimiento de la composición fúngica de los nidos de *Caiman latirostris*, proporcionaría la base para determinar patrones naturales de distribución de microhongos saprótrofos, biótropos-patógenos, entre otros. Los hongos que están limitados a un grupo particular de hospedadores poseen distribuciones, que son al menos coincidentes con las plantas asociadas y/o algún otro factor que limite su distribución.

El factor más importante que influye en la distribución y estilos de vida de los hongos es su nutrición heterotrófica (COOKE Y RAYNER 1984). Por lo tanto, el crecimiento fúngico está limitado a ambientes con suministros orgánicos (o ricos en componentes orgánicos) más o menos disponibles para su uso. Se pueden encontrar en un amplio rango de hábitats propágulos de dispersión, esporas de dispersión y esporas de reposo independientemente de su micelio. Los microhongos crecen sobre materia orgánica en todos los hábitats imaginables incluyendo aquellos sitios con climas extremos (e.g: Antártida). La naturaleza del sustrato, sus características físicas y la cantidad de nutrientes, entre otros, determinan el éxito de la colonización, la subsecuente supervivencia de los hongos y la composición específica de la comunidad (CHRISTENSEN 1989, RAYNER 1994, ZOLAN 1995).

Es escasa la evidencia que, demuestra el efecto de la temperatura sobre la diversidad de los hongos, aunque los fisiólogos acuerdan en que la mayoría de los hongos crecen y esporulan mejor a temperaturas que oscilan entre los 15°C a 20°C (COOKE Y WHIPPS 1993). Estos autores, sugieren también que muchos hongos están adaptados a vivir en climas cálidos. Entre los factores que afectan la diversidad de hongos hay que considerar también la humedad, cuyo efecto es más

importante que el de la temperatura por si sola. Por lo tanto, el agua sería un factor limitante para el crecimiento de los hongos. En los trabajos en los que consideran "diversidad", ésta es generalmente mayor en ambientes acuáticos (KOHLMAYER Y VOLKMANN-KHOLMEYER 1991, SHEARER ET AL. 2007, JONES ET AL. 2009). Aunque, algunas especies están adaptadas a ambientes xéricos ya sean naturales o por acción antrópica (PETROVIČ ET AL. 2000; BUTINAR ET AL. 2005). La diversidad de hongos asociados con plantas es menor en zonas áridas comparadas con aquellas zonas mésicas, lo que es debido a una restricción de estos hongos a micronichos donde el agua está más disponible (FISHER ET AL. 1994). Otros factores como la variación topográfica y el tipo de suelo afectarían también la diversidad de hongos pero de manera indirecta porque éstos influyen primariamente en la flora del sitio de estudio (CANNON Y SUTTON 2004). La diversidad taxonómica y la variedad estructural de las plantas ejercen una gran influencia sobre la diversidad microfúngica en un sitio. La diversidad también está relacionada con las variaciones en las formas de vida de las plantas, ya que tejidos lignificados, maderas y ramas demoran más en su descomposición y exhiben una sucesión fúngica más extensa. En general, los hongos están asociados a grandes grupos de plantas (e.g. pastizales, palmeras, angiospermas, cactus, coníferas, etc.) y estas asociaciones tienden a ser diferente entre ellas (SEIFER ET AL. 2011).

Como se mencionó al principio, los patrones de distribución de los hongos están íntimamente relacionados con sus modos de nutrición. Se reconocieron tres estrategias nutricionales que no son necesariamente excluyentes entre sí (COOKE Y RAYNER 1984). Las especies en distintas circunstancias pueden manifestar las tres estrategias y también pueden cambiar sus modos de nutrición a lo largo de su ciclo de vida.

Las estrategias nutricionales básicas son,

- **Saprotrofia**: es el hábito nutricional más común en los hongos que colonizan hojarasca y ocurre cuando un hongo usa material orgánico no vivo.
- **Necrotrofia**: generalmente involucra procesos similares a la saprotrofia, ya que el hongo mata al organismo y posteriormente lo utiliza para su nutrición. Para muchos hongos la variación entre necrotrofia – saprotrofia garantiza su ciclo de vida y esta transición es gradual.
- **Biotrofia**: Se desarrollan sobre organismos vivos, utilizando la materia orgánica de las células como fuente para su nutrición. Algunos biótrofos se convierten en necrótrofos y una pequeña proporción puede funcionar como saprótrofos.

Los procesos por los cuales los restos vegetales son alterados y retornan al ambiente son variados y es inevitable que los nichos y estrategias tróficas se solapen. Según COOKE Y WHIPPS (1993) estas tres estrategias fluctúan entre una y otra según la especie y actualmente se reconocen nueve categorías de comportamiento (TABLA 2.2.1). Se debe enfatizar que éstas no llevan connotaciones jerárquicas y además representan una serie de continuos. Donde los dominios se solapan está la oportunidad de comportamiento facultativo con respecto a los modos nutricionales adyacentes. Sobre la base de frecuencias observadas de comportamiento facultativo, parecería que es más común la transición entre saprotrofia y necrotrofia que entre estos y biotrofia.

También existe otra forma de clasificación de estos organismos como la propuesta por DIX Y WEBSTER (1995) incorporando el concepto de "estrategias de vida". Tanto estos autores como PUGH Y BODDY (1988) enfatizaron que los tipos nutricionales de hongos cambian según la etapa de crecimiento en la cual se encuentran. Estas clasificaciones (Ruderales, competitivos y tolerantes al estrés) pueden utilizarse, preferentemente, para definir su comportamiento según el estado de desarrollo de cada especie.

Tabla 2.2.1: Grupos econutricionales de hongos según su estrategia nutricional y comportamiento ecológico (COOKE Y WHIPPS 1993)

Biótrofos Obligados (BO)	Ninguna capacidad saprotrófica o necrotrófica
Hemibiótrofos (HB)	Inicialmente biótrofos, aunque luego se vuelven necrotróficos. Potencial saprotróficos.
Saprótrofos facultativos – Hemibiótrofos (FSH)	Inicialmente biótrofos convirtiéndose en necrótrofos. Ocurre una etapa final como saprótrofos.
Necrótrofos Obligados (NO)	Normalmente necrótrofos, cualquier habilidad como saprótrofos limitada o restringida a permitirles sobrevivir sobre tejido muerto.
Saprótrofos Facultativos – Necrótrofos (SFN)	Normalmente necrótrofos pero con algunas habilidades para convertirse en saprótrofos
Necrótrofos facultativos – Saprótrofos (NFS)	Normalmente saprótrofos pero con habilidades para convertirse en necrótrofos.
Saprótrofos obligados (SO)	Ninguna capacidad biotrófica o necrotrófica
Biótrofo facultativo – Saprótrofo (BFS)	Normalmente saprótrofos pero con capacidades biotrófica
Saprótrofo facultativo – Biótrofo (SFB)	Normalmente biótrofos pero con capacidades saprotróficas.

Limitaciones del estudio de los microhongos:

La naturaleza diminuta de los microhongos hace difícil su observación directa en el campo, como consecuencia, el muestreo debe enfocarse en el sustrato y no en el muestreo de una sola especie. Con este grupo de organismos, generalmente, se tiene poca idea de lo que se ha colectado hasta que el material es examinado debidamente bajo microscopio. La falta de notoriedad (incluso cuando fructifican) es una barrera importante para entender su diversidad y los roles que desempeñan en los ecosistemas. El montaje meticuloso para observación al microscopio, de estructuras vegetativas o esporas, es la única manera de determinar la especie que observamos y si hay más de una en la muestra. Algunos ambientes son muy complejos y se deben utilizar varios métodos de procesamiento de muestras para caracterización fúngica.

La mayoría de los hongos persisten en el ambiente en su forma vegetativa o micelial, y pueden esporular por períodos cortos de tiempo. Algunos poseen estructuras melanizadas que protegen las esporas en épocas de intensa sequía, bajas temperaturas, elevada incidencia de rayos U.V, etc. Otras estructuras vegetativas como: clamidosporas, esclerocios, bulbillos, setas, etc., también podrían ser producidas parcial o completamente para dispersión o supervivencia en períodos fríos y secos. La variación en la composición fúngica puede observarse, en la parte superior a inferior de una hoja de hojarasca, entre ramas en pie y caídas, etc.

Antecedentes de la interacción microhongos y reptiles: Importancia del estudio de la microbiota en los nidos de *Caiman latirostris*.

Diversos autores han analizado la interacción de hongos patógenos con huevos de distintas especies de reptiles; otros pocos han enfocado sus trabajos en analizar los hongos asociados al material utilizado para la construcción de los nidos de estos reptiles. En cuanto al efecto de los hongos sobre el normal proceso de incubación de los huevos y desarrollo de los mismos, varios trabajos refuerzan con evidencias que los hongos pueden detener el desarrollo del embrión y luego esparcirse hacia huevos adyacentes. Esta colonización generalmente, es por medio de hongos comunes de suelo que pueden ser patógenos (biótrofos) oportunistas (PHILLOT Y PARMENTER 2001A, VERWEIJ Y BRANDT 2007). Además las condiciones internas del nido en lo que respecta a temperatura, humedad y materia orgánica en descomposición propician el escenario óptimo para el crecimiento de los hongos (HECNAR 1994, MOREIRA LOPES Y BARATA 2005). El microambiente de incubación de los huevos en las tortugas marinas es afectado espacio – temporalmente por variables bióticas (microorganismos) y abióticas (características de la arena, contenido de gases, humedad y temperatura); el éxito de eclosión de distintas especies de tortugas es bajo y la pérdida de huevos por acción fúngica es elevada (CLUSELLA TRULLAS Y PALADINO 2007). La muerte incidental de los huevos y los hongos responsables fueron aislados e identificados en material de nido de:

Chelonias mydas (SOLOMON Y BAIRD 1980), *Caretta caretta* (PETERS ET AL. 1994, GÜÇLÜ ET AL. 2010), *Lepidochelys olivacea* (ACUÑA – MESÉN 1992) y lagartos como *Lacerta monticola* (MOREIRA LOPES Y BARATA 2005); en estos casos, la acumulación de arena y restos de cáscaras de huevos de nidificaciones anteriores disminuyen la calidad del material de incubación natural y son un sustrato óptimo para hongos de suelo que han afectado las nidadas (CLUSELLA TRULLAS Y PALADINO 2007).

Son escasos los trabajos de esta índole en cocodrilos y especies relacionadas, sin embargo son numerosas las investigaciones que describen casos de micosis con la consecuente descripción del hongo patógeno responsable de las mismas (BUENVIAJE ET AL. 1994, THOMAS ET AL. 2002, PALACIOS Y SICK 2004). TANSEY (1973) aisló varias especies de hongos termotolerantes en material de nido de *Alligator mississippiensis*, (entre ellos a *Aspergillus fumigatus*, *Burgoa-Papulospora* sp. y *Chaetomium termophile*) estos hongos ocurren en ambientes naturales y utilizan como sustrato los restos vegetales que constituyen los nidos. Un informe técnico sobre *Crocodylus johnstoni* (PEUCKER ET AL. 2005) detalla los hongos que se aislaron de cáscaras de huevos y de material de nido y los hongos listados son en su mayoría comunes de suelo y restos vegetales.

Es un hecho conocido, la pérdida de huevos en criaderos y en ambientes naturales donde se puede observar algún micelio sobre los huevos, aunque esto es preocupante, no sobran en la literatura trabajos que analicen que tipo de hongos son y cual sería su procedencia. Se especula sobre la presencia y función de los hongos (FERGUSON 1982), pero es poco lo realizado hasta el momento. Para cubrir la falta de información sobre estos aspectos en *Caiman latirostris*, se propuso el análisis de la microbiota asociada a los nidos como primera medida. Se espera que los resultados sirvan en el campo de la veterinaria también, ya que la descripción de las especies de hongos aisladas puede arrojar luz a la presencia de algunas especies potencialmente patógenas causantes de micosis que producirían la pérdida de individuos juveniles y adultos de caimán afectando además, el desarrollo de los embriones durante el período de incubación.

2.2.2 OBJETIVOS

- Caracterizar las comunidades fúngicas según el sitio de nidificación.
- Identificar, dentro de las comunidades fúngicas, especies potencialmente patógenas para *Caiman latirostris*.

2.2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de Muestreo: Los sitios de la provincia de Santa Fe que fueron considerados para este muestreo fueron: campo "Cacique", Los Saladillos y Espín. El material de nidos de *Caiman latirostris* fue colectado durante el inicio de la temporada reproductiva (de Diciembre a Enero, coincidente con la época estival) desde el año 2009 al año 2011. La cantidad de nidos procesados estuvo limitada por las condiciones ambientales imperantes durante los años de muestreo (SIMONCINI ET AL. 2011).

Durante los años de muestreo fueron colectados 15 nidos: 3 construidos en el Monte, Isletas de Bosque RIII y Espinillar RIII (1 en el año 2009 y 2 durante el 2011), 5 construidos en la Sabana, Praderas RIII alternando con Abras RI (1 durante el año 2009, 1 durante el año 2010 y 3 durante el año 2011) y 7 construidos en el Embalsado (2 durante el año 2009, 2 durante el año 2010 y 3 durante el año 2011) (ver caracterización de los ambientes de nidificación en Capítulo 1).

Metodología de muestreo: En cada nido se tomó una muestra del material vegetal hallado en la cámara donde se alojaban los huevos y se lo almacenó en bolsas estériles con cierre hermético (FIG 2.2.1). Las muestras fueron conservadas a 4°C en refrigerador hasta su procesamiento bajo las técnicas

descriptas para el muestreo de hongos filamentosos: Técnica de Lavado de Partículas y Técnica de Cámaras Húmedas.



Figura 2.2.1: A - Muestra en bolsa esterilizada de cierre hermético; B - toma muestra material de nido.

Técnicas de procesamiento:

- Técnica de Lavado de Partículas:

Antes del procesamiento de las muestras se puso a punto la cantidad de lavados a las que fueron sometidas las mismas. Para determinar que cantidad de lavados necesita la muestra para conservar la relación 1 partícula/1 UFC (Unidad Formadora de Colonia) se realiza previamente la siembra continua de 100 μ l de la suspensión cada 5 lavados hasta obtener 5 colonias por caja sembrada con esa alícuota. Una vez obtenido el número de 5 UFC/caja Petri, se determina en que número de lavados se obtuvo ese resultado y como consecuencia esa cantidad de ciclos sufrirá cada muestra antes de que cada partícula sea sembrada (FIG 2.2.2).

En cuanto a la Técnica per se (PARKINSON Y WILLIAMS 1961), ésta constó de algunas etapas que se describen a continuación:

- Se tomó aproximadamente el 50% del material total colectado en los nidos y se pasó por una procesadora (previamente sumergida en alcohol 70° durante 24 hs).

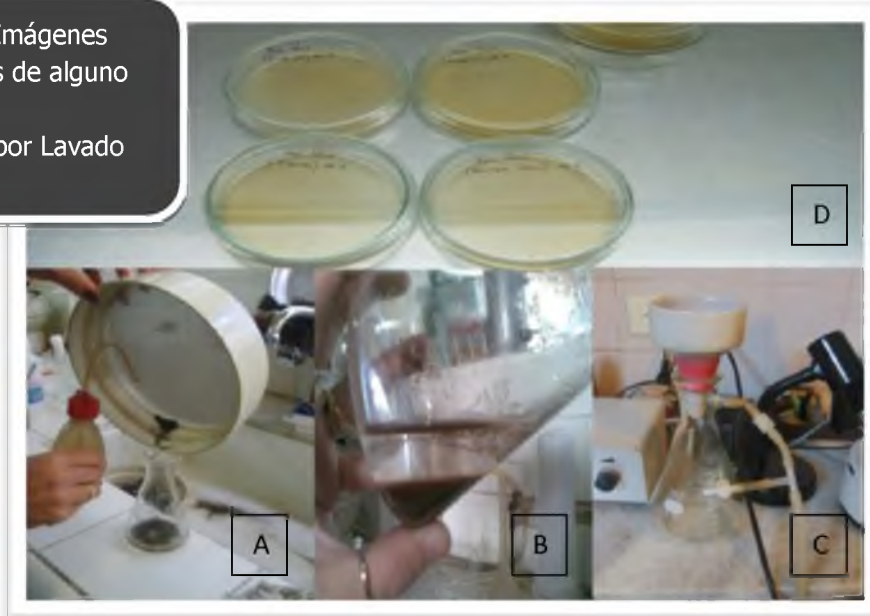
- El material procesado fue tamizado con mallas N° 35 y N° 500 utilizando agua destilada.



Figura 2.2.2: Esquema gráfico sobre la puesta a punto de la cantidad de lavados necesarios para el procesamiento de las muestras del material de nido por medio de la Técnica Lavado de Partículas.

- Los restos de material que fueron retenidos por la malla fina fueron traspasados a un Erlenmeyer de 250 ml previamente esterilizado en autoclave (FIG 2.2.3 A).
- El material fue lavado repetidamente (n = 30 lavados) con agua destilada estéril (FIG 2.2.3 B).
- Luego del último lavado, el contenido se vierte en una bomba de vacío, sobre un papel de filtro estéril, que extrae toda el agua de las partículas. Posteriormente el material se deja secar por 24 hs en una caja de Petri esterilizada que contiene papel de filtro que funciona como absorbente del excedente de agua en la muestra (FIG 2.2.3 C).
- Una vez que la muestra se secó, se inspeccionó en la lupa y se extrajeron con una pinza punta de aguja las partículas que fueron sembradas en cajas de Petri con medio nutritivo (FIG 2.2.3 D).

Figura 2.2.3: Imágenes ejemplificadoras de alguno de los pasos del procesamiento por Lavado de Partículas



Para esta metodología fueron sembradas 725 partículas entre todos los nidos colectados entre 2009 – 2011. De ese total: 175 partículas pertenecieron a los nidos de monte, 225 partículas provinieron de los nidos de sabana y 325 partículas fueron de los nidos de embalsado.

Técnica de Cámaras Húmedas: es también, comúnmente usada por los micólogos para el relevamiento de especies de hongos que no son visibles a simple vista. Distintos géneros y especies de hongos solo se pueden distinguir sobre las bases de las características de sus cuerpos fructíferos y/o esporas. Para aumentar la probabilidad de registrar distintas especies de hongos raras, pequeñas o formas inconspicuas, se implementó este método de laboratorio. Esta técnica exigió mantener el sustrato (hojas, trozos de ramas y troncos) por largos períodos de tiempo en cámaras (i.e. cajas de Petri) donde fueron manipuladas las condiciones ambientales (i.e. fotoperíodo, humedad y temperatura) y durante ese tiempo se pudo: Observar, registrar e ilustrar los hongos a medida que fueron creciendo y desarrollándose. A su vez, esporas aletargadas y/o micelios inmersos en el sustrato que pudieron ser colectados fueron inducidos y provocados para que evidencien

crecimiento para su posterior determinación específica. Para una descripción detallada del tipo de dispositivo y condiciones de mantenimiento ver KRUG (2004) (FIG 2.2.4).

Para esta técnica se procesaron 1815 trozos de material vegetal de todos los nidos provenientes de los tres ambientes de nidificación considerados para esta tesis. Proveniente de los nidos de monte se colocaron en cámara húmeda $n = 435$ restos vegetales, $n = 555$ restos vegetales de los nidos de sabana y $n = 825$ restos vegetales de los nidos de embalsado.

Figura 2.2.4: Trozos de material de nido en Cámaras húmedas y hongos en portaobjetos fijados para continuar su determinación sin perder la muestra.



Análisis de los datos: a medida que las especies de hongos fueron identificadas a nivel de género y/o especies, se formularon listas de especies propias de cada ambiente de nidificación. Se realizaron determinaciones cuali-cuantitativas de hongos y la abundancia fue cuantificada considerando 1 UFC (Unidad Formadora de Colonia) como un individuo.

Diversidad alfa (Diversidad intra-comunidad puntual): Se cuantificó a nivel local la Riqueza específica (S) como índice directo cuyo resultado es el número total de especies por ambiente, equitatividad (J) y los valores de abundancia (N) de individuos por especies. Como en este caso el esfuerzo de muestreo no fue el

mismo para cada ambiente, se utilizó la rarefacción como método de interpolación para la comparación de los valores de riqueza de especies para cada hábitat (PAST SOFTWARE, PALEONTOLOGICAL DATA ANALYSES 2009). De esta forma se estima el número de especies que se observaría en las muestras interpolando para el menor número de individuos observados entre ellas (ZAK Y WILLIG 2004).

Para cuantificar la diversidad se utilizó el Índice de Shannon – Wiener, que es un índice de equidad utilizado comúnmente. Este cálculo se realizó con los valores de abundancia homogenizados según el método aplicado en RAMÍREZ-GONZALES (2006) para muestras con distinto esfuerzo de muestreo. Las comparaciones de estos índices entre las muestras se realizó por medio del Test t (Diversity t -test, PAST SOFTWARE, PALEONTOLOGICAL DATA ANALYSES 2009). Además la distribución proporcional de cada especie en cada ambiente se analizó por medio de modelos matemáticos de esta forma también se puede analizar la estructura de la comunidad y realizar interpretaciones biológicas con respecto a los datos (MAGURRAN 1998). El valor de p que arroja el programa PAST para este tipo de análisis, permite determinar que modelo de distribución se ajusta mejor a los datos, varía de 0 a 1 y cuanto más cercano a 1 hay un mejor ajuste del modelo (MORENO 2001).

Diversidad beta temporal y espacial (Diversidad inter-comunidad): Para estos análisis se realizó una clasificación aglomerativa y jerárquica (Cluster) con respecto a la similitud en la composición específica de los ensamblajes fúngicos de cada nido por cada año de muestreo. También se analizó la similitud de los sitios de los ambientes de nidificación (embalsado, sabana y monte) (Cluster usando el algoritmo UPGMA) con respecto a las especies registradas durante todos los años de muestreo. Se realizó el agrupamiento por medio del índice de similaridad de Jaccard. Este índice es considerado como la medida de similaridad más confiable para datos de presencia – ausencia y es la medida de la proporción de elementos (especies) que tienen en común dos lugares (CASCALES-MIÑANA 2010).

Para calcular el grado de reemplazo entre las comunidades fúngicas entre los ambientes de nidificación se utilizó el Índice de Whittaker (β_w), y se basa en datos cualitativos de presencia – ausencia (KOLEFF 2005). Además se calcularon los valores de complementariedad ($C_{AB} = \text{Especies únicas a cualquiera de los dos sitios} / \text{Riqueza total sitio AB}$) entre las comunidades, la cual varía desde 0 cuando ambos sitios son idénticos en composición de especies hasta 1 cuando las especies de ambos sitios son completamente distintas (COLWELL Y CODDINGTON 1994, MORENO 2001).

2.2.4 RESULTADOS

Del total de muestras analizadas se identificaron 101 especies de hongos (Riqueza total) con una abundancia total de 1597 UFC. De la abundancia total el 11% fueron levaduras, el 2.7% fueron bulbillos estériles (hialinos y dematiáceos), el 6.2% fueron micelios estériles (hialinos y dematiáceos), el 4.9% fueron ascomicetes y el 75% fueron hongos filamentosos o anamorfos de ascomicetes. Del total de especies identificadas el 68.3% son hongos de nutrición principalmente saprótrofa, el 28.7% son hongos descritos principalmente como patógenos y solo el 4% de las especies fueron hongos que no esporularon o estériles.

Análisis de diversidad alfa:

En los nidos de embalsado se calculó una abundancia de 877 UFC (0.76 abundancia relativa UFC; $n = 1150$ partículas y restos vegetales); de este total el 8.6% fueron levaduras, el 5.9% fueron bulbillos estériles, el 7.2% fueron micelios estériles, el 78.3% fueron hongos filamentosos de los cuales corresponden un 4.9% a Ascomycota y el 73.4 % a anamorfos de Ascomycota. La riqueza total encontrada para este ambiente fue de 80 especies (incluyendo levaduras, bulbillos estériles y micelios estériles), lo que representa el 79.4% del total de especies para los tres ambientes. La equitatividad (J) presentó un valor elevado (0.83).

El análisis de la distribución proporcional de las especies de hongos en los nidos de embalsado se ajustó al modelo Log-Series o Logarítmico ($\alpha = 21.75$, $x = 0.97$, $\chi^2 = 15.28$, $p = 1$) (FIG 2.2.5). El valor fue de 3.6 para el Índice de Shannon-Wiener. Del total de especies fúngicas identificadas en los nidos de embalsado el 29.6% fueron especies raras representadas por 1 UFC cada una y 17 especies fueron las más abundantes con abundancias porcentuales entre 2% (18 de 877 UFC) y 8.7% (76 de 877 UFC) (TABLA 2.2.4). Entre las especies más abundantes se destaca la presencia de hongos saprobios principalmente acuáticos, higroscópicos y/o de sedimentos estuarinos como: *Tetraplophaeria tetraploa*, *Helicomycetes tenuis* y *Thielavia terricola*, respectivamente. Del total de especies para los nidos de este ambiente, el 63.7% fueron hongos saprótrofos, el 31.2% fueron hongos con antecedentes como patógenos y el 5% fueron hongos estériles.

En los nidos de sabana la abundancia de UFC fue de 474 (0.60 abundancia relativa UFC; $n = 780$ partículas y restos vegetales); de este total 16.7% fueron levaduras, 1% fueron bulbillos estériles (hialinos y dematiáceos), el 8% fueron micelios estériles (hialinos y dematiáceos), el 74.3% fueron hongos filamentosos de los cuales corresponden un 1.9% a Ascomycota y el 72.4% a anamorfos de Ascomycota. La S_{sabana} fue 46 especies (45.1% del total para los tres ambientes) incluyendo levaduras, bulbillos estériles y micelios estériles. La equitatividad (J) presentó un valor de 0.78, un poco menor con respecto a los valores de equitatividad de la comunidad fúngica de embalsado. De la riqueza total para estos nidos el 69.6% de los hongos fueron saprótrofos, el 23.9% fueron hongos patógenos y el 6.5% fueron hongos estériles.

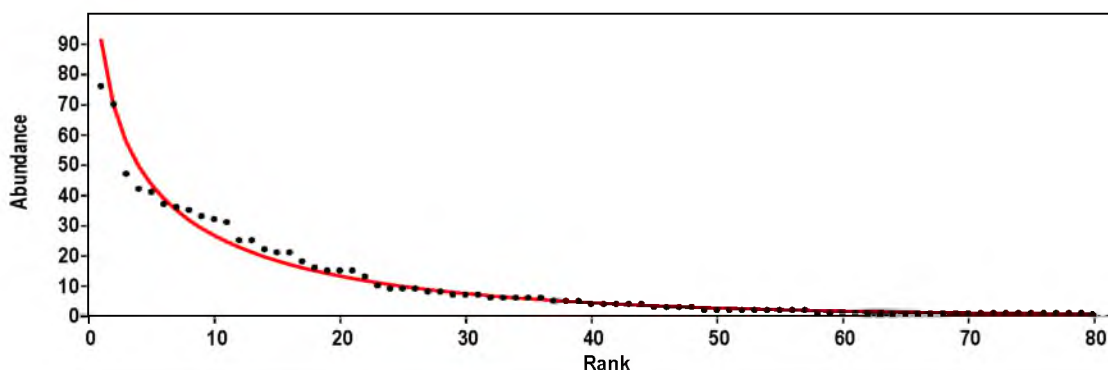


Figura 2.2.5: Modelo Log-Series o Logarítmico de distribución de la abundancia de las especies fúngicas en los nidos de embalsado.

El análisis de la distribución proporcional de las especies de hongos en los nidos de sabana se ajustó al modelo Log-Series o Logarítmico ($\alpha = 12.58$, $x = 0.97$, $\chi^2 = 20.94$, $p = 0.85$) (FIG 2.2.6). El valor de 2.95 fue para el Índice de Shannon-Wiener.

Del total de individuos identificados en estos nidos, el 30.4% fueron especies raras representadas por 1 UFC y 9 especies fueron las de mayor abundancia de UFC entre 3.6% (17 de 474 UFC) y 16.7% (79 de 474 UFC) (TABLA 2.2.4). Entre las especies más abundantes la mayoría son hongos saprótrofos comunes en los suelos de un amplio rango de hábitats y además crecen la mayoría sobre restos de vegetales herbáceos, como: *Drechslera bisepitata*, *Thielavia terrícola*, *Trichoderma* sp., entre otros (ver TABLA 2.2.4). En este ambiente se destaca la presencia de especies comunes de ambientes muy húmedos o que crecen sobre sustratos a los laterales de los ríos y arroyos como: *Clathrophaerina zalewskii*.

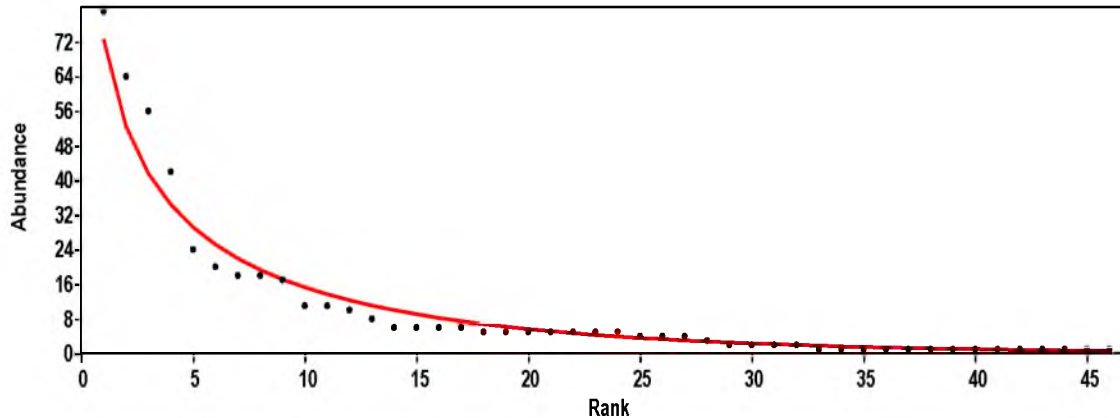


Figura 2.2.6: Modelo Log-Series o Logarítmico de distribución de la abundancia de las especies fúngicas en los nidos de sabana.

En los nidos de monte la abundancia de UFC fue de 246 (0.40 abundancia relativa UFC; $n = 610$ partículas y restos vegetales); de este total el 8.5% fueron levaduras, el 2% fueron bulbillos estériles, el 6.9% fueron micelio estériles, el 82.5% fueron hongos filamentosos de los cuales corresponden un 11% a Ascomycota y el 71.5 % a anamorfos de Ascomycota. La S_{monte} fue de 46 especies

(45.1% del total identificados para todos los ambientes). La equitatividad presentó un valor de 0.83 y 3.23 el índice de Shannon. De la riqueza total para los nidos de monte el 63% fueron hongos saprótrofos, el 28.3% fueron patógenos (biótropos) y el 8.7% fueron hongos filamentosos estériles que no pudieron clasificarse.

El análisis de la distribución proporcional de las especies de hongos en los nidos de monte, al igual que en los otros ambientes, se ajustó al modelo Log-Series o Logarítmico ($\alpha = 16.68$, $x = 0.94$, $\chi^2 = 10.86$, $p = 0.99$) (FIG 2.2.7).

En los nidos de monte tanto las especies de hongos raras (32.6%) como las especies más comunes con abundancias porcentuales desde 5.7% (14 de 246 UFC) a 11% (27 de 246 UFC) fueron hongos en su mayoría saprobios y comunes de suelos.

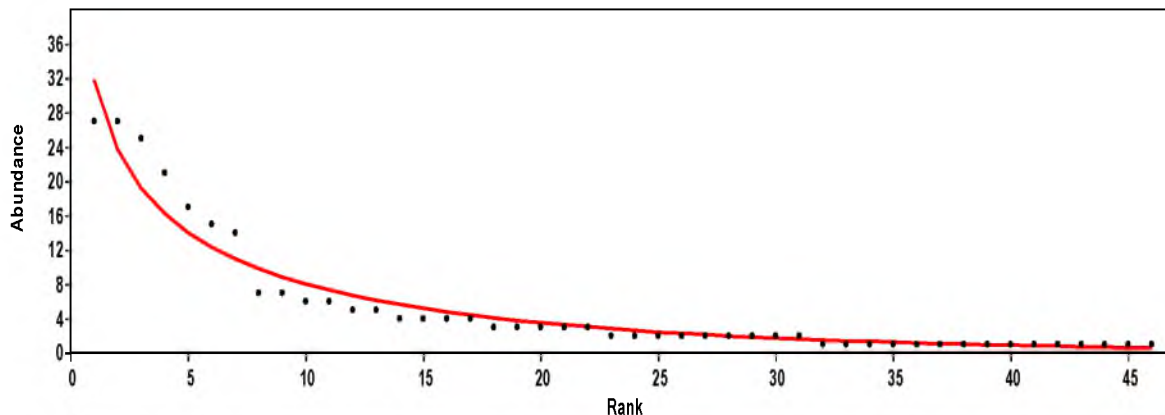


Figura 2.2.7: Modelo Log-Series o Logarítmico de distribución de la abundancia de las especies fúngicas en los nidos de monte.

Luego del proceso de rarefacción individual ($n_{\text{mínimo}} = 246$ UFC) los valores de riqueza de especies ($S_{\text{obs}} \pm D.E$) útiles para una comparación entre ambientes fueron mayores para el ambiente embalsado (53.8 ± 3.07 sps.) con respecto a los nidos de monte (46 ± 0 sps.) y sabana (37.8 ± 2.1 sps.) (FIG 2.2.8). La diversidad (Índice de Shannon) fue diferente entre los tres ambientes ($p < 0.05$). Entre el embalsado ($\text{var } H' = 0.0012$) y la sabana ($\text{var } H' = 0.0021$) ($t = -11.272$; $gl = 1240.6$), entre el embalsado y el monte ($\text{var } H' = 0.0015$) ($t = 7.026$; $gl = 1291.6$) y entre la sabana y el monte ($t = -4.68$; $gl = 1149.9$).

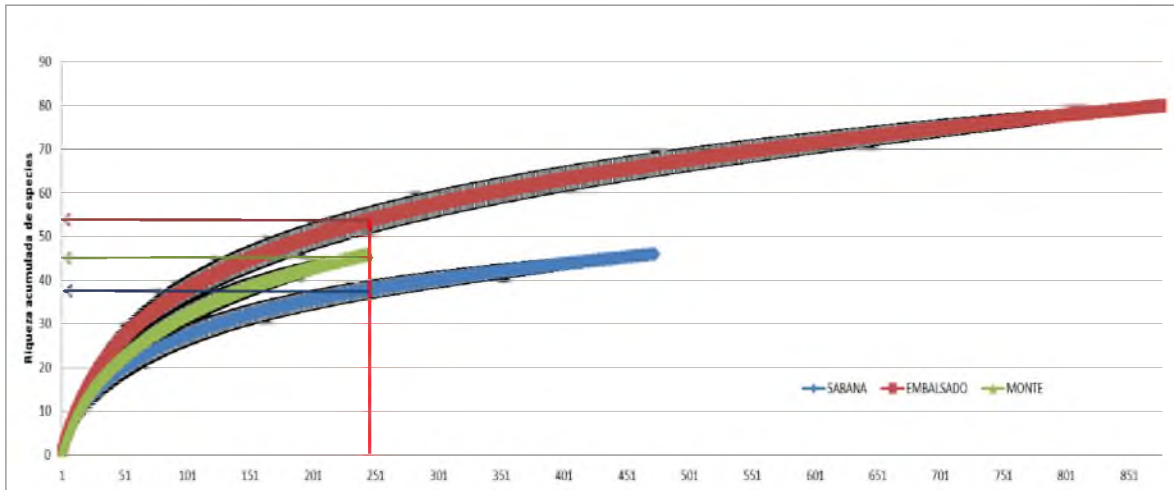


Figura 2.2.8: Rarefacción individual ($n = 246$ UFC). Valores de Riqueza acumulada observada (S_{obs}) de cada ambiente de nidificación \pm desvío estándar (D. E) (**eje Y**) versus el número total de UFC para cada ambiente (**eje X**). **Línea roja:** n° UFC (246) mínimo para realizar la interpolación de los valores de Riqueza (S_{obs}). **Flecha Azul:** n° esperado de especies fúngicas para los nidos de Sabana si se hubiesen contabilizado 246 UFC. **Flecha verde:** Nidos de monte que determinan el mínimo de UFC a la cual se deben interpolar las muestras restantes. **Flecha bordo:** Riqueza acumulada de especies para los nidos de embalsado si se hubiesen cuantificado 246 UFC.

Análisis Diversidad Beta temporal y espacial:

Del agrupamiento según la similitud en la presencia-ausencia de especies fúngicas entre los nidos se observó que el año de muestreo tiene una influencia importante sobre los ensamblajes fúngicos de cada nido (FIG 2.2.9). Durante el año 2010 y 2011 se observó un agrupamiento según la similitud en la composición fúngica de los nidos de embalsado en un mismo clúster y de la misma forma con similitudes de aproximadamente el 52% - 58% se agruparon los nidos de sabana muestreados durante el año 2011. El nido de sabana colectado en el año 2010 presentó menor similitud en su comunidad fúngica con respecto a los nidos de embalsado del mismo año.

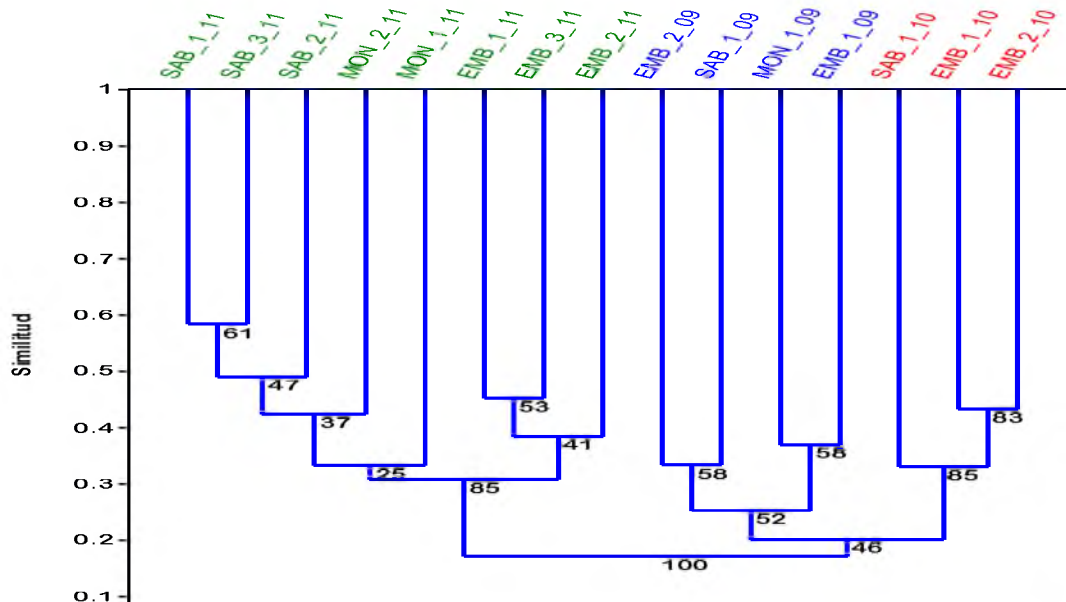
"DIVERSIDAD MICBIÓTICA DE LOS NIDOS DE *Caiman latirostris*"

Figura 2.2.9 Dendrograma que muestra las similitudes entre los ensamblajes fúngicos de cada nido codificado según su ambiente de nidificación y año de muestreo. Generado a partir de una matriz de similitud calculada con el Índice de Jaccard (método de agrupamiento UPGMA). MON = Monte, SAB = Sabana y EMB = Embalsado; 09 = año 2009, 10 = año 2010 y 11 = año 2011. Numeración consecutiva entre 1 y 3 para diferenciar los nidos en cada ambiente y facilitar el análisis del dendrograma.

Los nidos de monte colectados durante el año 2011 (MON 1_11 y MON 2_11) tienen una similitud en su composición fúngica del 36% y solo el nido MON 2_11 tiene valores más elevados de similitud en su ensamblaje de especies fúngicas (de aproximadamente 48%) con los nidos de sabana del mismo año que con el nido de MON 1_11. Los nidos del año 2009 tienen valores bajos de similitud en su composición fúngica específica y a su vez no presentan ningún patrón de asociación de los nidos según el ambiente de nidificación (FIG 2.2.9).

El análisis de Cluster de los tres ambientes de nidificación según la similitud en su composición fúngica específica, agrupó con una similitud de 43% el ambiente de nidificación de monte junto al de sabana. El ambiente de nidificación embalsado (*sensu lato*) tuvo valores de asociación/similitud más bajos respecto a los otros ambientes (ambiente nidificación sabana y ambiente de nidificación de monte = 35%) (FIG 2.2.10).

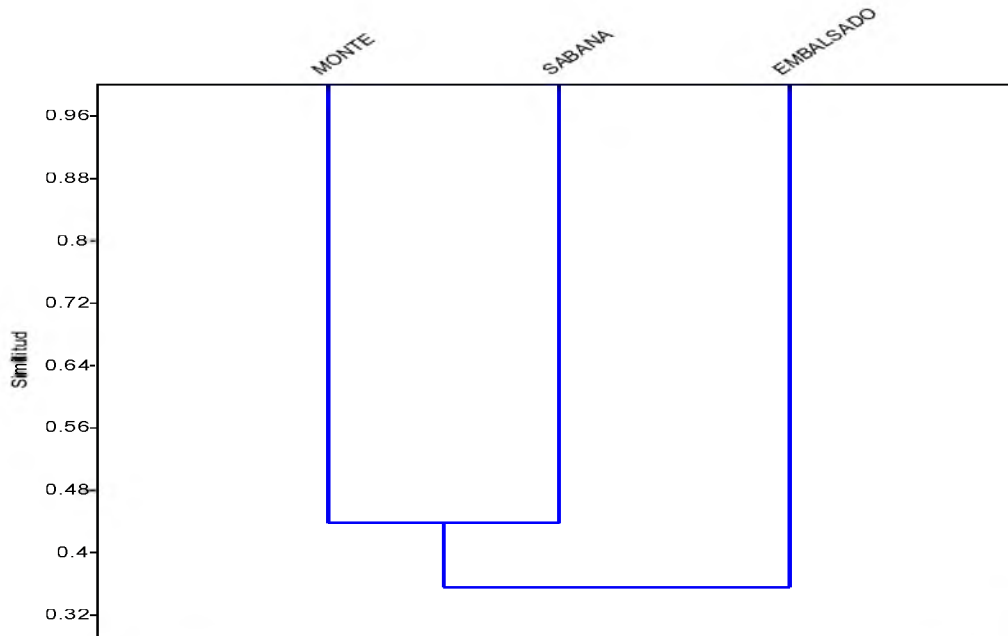


Figura 2.2.10 Dendrograma que muestra las similitudes entre las comunidades fúngicas de los tres ambientes de nidificación. Generado a partir de una matriz de similitud calculada con el Índice de Jaccard (método de agrupamiento UPGMA).

El grado de reemplazo entre las comunidades fúngicas de los tres ambientes de nidificación calculado por medio del Índice de Whittaker (β_w) tuvo valores intermedios entre 0 y 1 (TABLA 2.2.2).

Tabla 2.2.2: Valores de Índice de Whittaker para cada comunidad fúngica según los ambientes de nidificación.

Whittaker (β_w)	SABANA	MONTE	EMBALSADO
SABANA	0.00		
MONTE	0.39	0.00	
EMBALSADO	0.48	0.48	0.00

Los resultados del cálculo de la complementariedad indican que el grado de disimilitud en la composición de especies entre pares de biotas indica que la comunidad fúngica del ambiente de embalsado tiene mayor disimilitud con las comunidades de monte y sabana. Pero entre éstas últimas comparten más especies por lo que el valor es menor (TABLA 2.2.3).

Tabla 2.2.3: Nivel de complementariedad de las comunidades fúngicas de los distintos ambientes de nidificación.

Complementariedad (C)	SABANA	MONTE	EMBALSADO
SABANA	0.00		
MONTE	0.59	0.00	
EMBALSADO	0.65	0.65	0.00

2.2.5 DISCUSIÓN

En este capítulo el 75% de los hongos identificados fueron anamorfos de ascomycota, este resultado concuerda con BILLS ET AL. (2004) donde expresan que este grupo de hongos es el de mayor diversidad y además son los más abundantes en el suelo. De acuerdo a STONE ET AL. 2000 la mayoría de las especies que se aíslan habitualmente en los suelos son hongos saprótrofos que viven sobre restos de materia orgánica muerta que yace sobre dicho sustrato. En este estudio los hongos mejor representados fueron coincidentemente los saprótrofos. En el total de especies identificadas algunas de ellas son de fácil aislamiento y esporulan profusamente (*Fusarium* sps., *Penicillium* sps., *Trichoderma* sps., entre otras) cuando se utiliza el método de lavado de partículas y otras especies por el contrario, únicamente pudieron ser identificadas por medio de cámara húmeda (ya que los requerimientos nutricionales no eran los que aporta el medio de cultivo utilizado para el otro método) (e.g. *Dactylaria* sp., *Dactylella* sp., *Myrothecium* sp., etc). El uso de las dos técnicas de muestreo permitieron observar e identificar especies que no hubiesen sido listadas de usar una u otra técnica (BILLS ET AL. 2004, SHARMA ET AL. 2011). Es probable que las técnicas aquí utilizadas para el aislamiento de hongos, favorezcan la identificación de especies fúngicas de crecimiento rápido. Esto subestima la riqueza de especies en una comunidad, ya que no se podrían aislar e identificar aquellas de crecimiento mucho más lento y/o restringido (FELDMAN ET AL. 2012).

Los nidos de embalsado presentaron los valores más elevados de riqueza con respecto a los nidos de monte y sabana. En los nidos de embalsado se destaca

la presencia de hongos saprótrofos acuáticos e higroscópicos y/o de sedimentos estuarinos: *Helycomices tenuis*, *Tetraplosphaeria tetraploa* (= *Tetraploa aristata* Scheuer 1991) y *Thielavia terricola*, estas especies presentaron valores de abundancia de UFC elevadas para este ambiente. Existen antecedentes de estas especies en distintos ambientes acuáticos (DOMSCH ET AL. 1993, SIVICHAI ET AL. 2000, SRIDHAR Y BÄRLOCHER 2000, GÖNCZÖL Y RÉVAY 2004, ZHAO ET AL. 2007), estos hongos coinciden con las características físicas del ambiente donde fueron identificados, ya que en el embalsado el agua es un factor constituyente muy importante. *Tetraplosphaeria tetraploa* fue una de las especies más abundantes; es un hongo típico de ambientes acuáticos o muy húmedos que se desarrolla en la base de hojas y sobre el suelo, en hospedadores herbáceos como: *Carex*, *Axonopus*, *Cortadeira*, *Cyperus*, *Erianthus* y *Juncus* (ELLIS 1971). Cabe destacar que a excepción de *Axonopus* y *Cortadeira* todos estos géneros fueron censados tanto en los nidos de *C. latirostris* construidos en este ambiente (ver TABLA 2.1.3) como en los censos de flora del embalsado (Capítulo 1, TABLA 1.5; 1.9; 1.13).

Dentro de las especies de hongos listadas hay otras que presentan valores de abundancia elevados, pero son las llamadas especies multihospedador y son aquellas que están influenciadas por las condiciones de un lugar, más que por la disponibilidad de un hospedador en particular (SÁNCHEZ MARQUEZ ET AL. 2008); generalmente son hongos cosmopolitas, entre ellos se reconocieron algunas especies de los siguientes géneros: *Chaetomium* sps., *Acremonium* sps., *Alternaria* sps., *Fusarium* sps., *Penicillium* sps. (DOMSCH ET AL. 1993, SCHULZ Y BOYLE 2005, SANCHEZ ET AL. 2007). En particular en este ambiente se identificaron aproximadamente 9 especies del género *Fusarium* y 6 especies del género *Penicillium*, estos hongos son típicos de suelos de pastizales de regiones templadas, aunque según CLARKE Y CHRISTENSEN (1981) identificar varias especies del género *Fusarium* es compatible con lo que ocurre en zonas de pastizales en varias regiones. Como se demostró en el Capítulo 1, los embalsados son ambientes con una homogeneidad elevada en cuanto a sus características físicas y

composición vegetal y están dominados por un estrato herbáceo compuesto en gran parte de especies típicas de pastizales. Otras especies fúngicas identificadas pertenecientes a otros géneros, que son consistentes con lo reportado en otros pastizales o zonas dominadas por herbáceas fueron: *Cladosporium* sps., *Drechslera biseptata*, *Pericornia echinocloae* y *Phoma* sp. (BILLS ET AL. 2004). Según BILLS ET AL. (2004) esta situación demuestra que estos ensamblajes de especies responden a la generalización que asegura que la similaridad ecológica entre hábitats regula las comunidades fúngicas sin importar la ubicación geográfica, este concepto fue seguido por MANDYAM ET AL. (2010) y por SEIFER ET AL. (2011).

En los nidos de sabana los hongos con mayor abundancia (*Drechslera biseptata*, *Ramichloridium torvi* y *Thielavia terricola*) son en general comunes de suelos en un amplio rango de hábitats y la mayoría coloniza o habita restos de vegetales herbáceos (ELLIS 1971, 1976, DOMSCH ET AL. 1993, KOWALIK 2012). De acuerdo al censo florístico realizado en estos nidos el estrato dominante es el herbáceo (TABLA 2.1.2) y a su vez de los censos florísticos de estos ambientes de nidificación se concluyó que su vegetación es compatible con praderas o abras de monte con predominio del estrato herbáceo con más de una altura característica dentro de su estructura vertical (TABLA 1.4; 1.8; 1.12). Dentro de la comunidad fúngica además se identificaron: *Halenospora varia* (= *Zalerion varia* Anastasiou 1963), *Melanochaeta hemipsila* (= *Sporochisma saccardoii* E.W. Mason & S. Hughes 1949) y *Clathrosphaerina zalewskii*, los cuales son hongos de ambientes con mayor humedad, acuáticos y/o de zonas cercanas a ríos y arroyos (TSUI ET AL. 2000, SIVICHAI ET AL. 2000, RAJSHEKAR Y KAVERIAPPA 2003); esto sería consistente con la ubicación de estos nidos de sabana que por lo general fueron construidos muy próximos a cuerpos de agua. Como ya fue expresado en el primer capítulo este ambiente de nidificación es intermedio entre el monte (*sensu lato*) y los embalsados (Capítulo 1, FIG 1.2). Las especies del género *Trichoderma* identificadas en los nidos de sabana (*sensu lato*), son hongos de crecimiento rápido que dominan en suelos húmedos, salinos y suelos con vegetación típica de

sabanas entre otros (DOMSCH ET AL. 1993, SHARMA ET AL. 2011). Asimismo, *Trichoderma viride* identificado en estos nidos, coloniza numerosas especies de plantas y fue aislado entre ellas, en una especie correspondiente al género *Spartina* (GESSNER Y GOOS 1973) y ésta presentó los valores de cobertura más elevados en los nidos censados en este ambiente.

En los nidos de monte las especies más comunes poseen una distribución cosmopolita y son además hongos comunes de suelo. Aunque cabe destacar que dentro del género *Chaetomiun*, el de mayor abundancia en estos nidos, hay especies típicas de materia orgánica lignificada (troncos, ramas de árboles, etc.), comunes en nidos de aves y otras especies donde haya disponibilidad de materia orgánica y acepta valores bajos a moderados de humedad (DOMSCH ET AL. 1993). Las especies censadas con menores valores de abundancia tienen como característica ser hongos hallados comúnmente en madera y en zonas tropicales y/o subtropicales (*Cylindrocarpon destructans*, *Cladosporium cladosporioides*, *Volutella ciliata* y *Cunninghamella echinulata*).

Los tres ambientes de nidificación presentaron especies fúngicas comunes multihospedador como: *Alternaria alternata*, *Cladosporium* sps. y *Drechslera biseptata* entre otras, las cuales no presentan una relación hongo-hospedador específica (SÁNCHEZ MÁRQUEZ ET AL. 2007, HIGGINS ET AL. 2011) y fueron censadas en restos vegetales de distinto origen en los tres ambientes observados durante el desarrollo de este trabajo. Estas especies según FELDMAN ET AL. (2012) pueden presentar variaciones en su abundancia entre sitios y dentro de estos sitios pueden presentar diferencias entre años.

La equitatividad de la comunidad fúngica fue más elevada en los nidos de embalsado y monte con respecto a los de sabana. Lo que significa que las especies listadas en los nidos de estos dos ambientes tienen una distribución de las abundancias de UFC más uniforme (MORENO 2001). El valor del Índice de Shannon fue algo mas elevado en el embalsado, con respecto a los otros dos ambientes,

como se planteó en la introducción, la disponibilidad de agua sería un factor limitante para el desarrollo de los hongos (FRYAR ET AL. 2005) y esto explicaría los valores más elevados de riqueza, abundancia y diversidad en los nidos de embalsado. La disponibilidad de agua en los otros dos sitios de nidificación es mucho menor y su incorporación a esos ambientes sería consecuencia de la cantidad de agua caída por lluvias en cada lugar (SHARMA ET AL. 2011). A su vez, una posible explicación de la diferencia en la diversidad fúngica entre los nidos de sabana y monte podría ser la composición vegetal de los mismos. Los nidos construidos en el monte presentaron una mayor riqueza florística, las especies censadas en los alrededores de los mismos varían desde vegetales leñosos hasta herbáceas de menor porte (TABLA 2.1.1). Además se ha observado que el monte (*sensu lato*), en todos los sitios de nidificación censados para esta tesis, presentó los valores más elevados de riqueza de especies (Capítulo 1, TABLA 1.3; 1.7; 1.11). Los nidos de monte están formados por: restos de ramas y troncos, suelo, restos de hojas de árboles y herbáceas, los cuales constituyen un sustrato que favorecería una mayor disponibilidad y variedad de superficies para el desarrollo de los hongos, lo que afectaría la diversidad de las comunidades fúngicas. En un sentido similar BILLS ET AL. (2004) plantea que la hojarasca en contacto con el suelo, dan cuenta de una mayor variedad de sustratos y por lo tanto una diversidad de hongos más elevada ligada íntimamente al horizonte humus – hojarasca. Además en zonas de bosques la cobertura de las especies que integran la flora, protegen al suelo del efecto del viento y el sol lo que reduciría la pérdida de humedad (FRYAR ET AL. 1999), favoreciendo el desarrollo de los hongos. En general la composición de especies fúngicas y la densidad de las mismas en una comunidad está afectada por una secuencia de cambios a través de la composición, fragmentación, descomposición y humedad de la materia orgánica muerta (BILLS ET AL. 2004).

La distribución proporcional de las abundancias fue para los tres ambientes (modelo log - series) lo que corresponde a una comunidad pequeña o en sus

primeras etapas de sucesión donde algunas especies son dominantes competitivamente (MORENO 2001). Dentro de las especies más abundantes se reconocen hongos que son generalmente descomponedores: *Alternaria alternata*, *Chaetomiun sp.*, *Drechslera biseptata*, *Colletotrichum sp.* y *Cladosporium sp.*, estos juegan un papel importante en estos procesos (FUKASAWA ET AL. 2009, KLECZEWSKI ET AL. 2012) y son especies con mayor resistencia a la desecación, rayos UV y la radiación solar (SHARMA ET AL. 2011). Además esta distribución nos permite decir que estas comunidades más allá de pequeñas, son comunidades donde las especies más abundantes explotan un amplio rango de recursos, en general las especies se establecen al azar y por lo tanto son comunidades que no están en equilibrio. Esta distribución coincide con la descrita por POLISHOOK ET AL. (1996) en las comunidades fúngicas de hojarasca en un bosque tropical y con la distribución hallada en el filoplano de hojas de especies herbáceas de una zona en recuperación (ZAK 1988, ZAK ET AL. 1990). La misma distribución se observó en las comunidades fúngicas de filosfera en el trabajo de UNTERSEHER ET AL. (2011) y según estos autores este modelo (log-series) resalta la significancia ecológica de las especies fúngicas poco frecuentes en las comunidades de filosfera.

Dentro de las especies con antecedentes como patógenos se identificaron a: *Fusarium oxysporum* (hongo con preferencia por ambientes con alta humedad), *Purpureocillium lilacinum* (= *Paecilomyces lilacinus* Thom 1910; hongo hallado comúnmente en regiones cálidas, pantanosas y/o estuarinas, hallado en nidos y plumas de aves) (DOMSCH ET AL. 1993), *Aspergillus brasiliensis* (= *Aspergillus niger* Tiegh 1867) y *Cladosporium cladosporioides*. Los hongos denominados patógenos latentes pueden comportarse como endófitos de plantas y/o saprobios por distintos períodos de tiempo (PHOTITA ET AL. 2004, SLIPPERS Y WINGFIELD 2007). Estas especies estuvieron asociadas a micosis oportunistas en reptiles las cuales activan respuestas inmunes adicionales que provocan efectos negativos en los organismos afectados (JACOBSON ET AL. 2000, PHILLOTT Y PARMETER, 2001B, 2006, MOREIRA LOPES Y BARATA 2005, PALACIOS Y SICK 2004, ELSHAFIE ET AL. 2007, MITCHELL Y TULLY 2009,

GÜÇLÜ ET AL. 2010, PATINO MARTINEZ ET AL. 2012). En el caso particular de *F. oxysporum* y *P. lilacinum* fueron identificados en las muestras provenientes de nidos de embalsado y monte, hallándose los valores más elevados de UFC por especies en los nidos de embalsado con respecto a los nidos de monte para la primer especie e identificándose una colonia de la segunda especie solo en los nidos de embalsado (TABLA 2.2.4 en Anexo de este capítulo).

La proporción de enfermedades micóticas en animales que son comunicadas es pequeña, y la mayoría de éstas son adquiridas de otras fuentes no animales en el ambiente; generalmente los hongos son saprótrofos pero en caso de encontrar un hospedador apropiado (e.g. inmunodeprimido) pueden causar un impacto negativo; si bien, ecológicamente su mayor impacto lo generan desde su condición de saprobios (SUMMERBELL 2004). Es por esto que el análisis de las comunidades fúngicas en los lugares utilizados por *C. latirostris* nos permitiría destacar la presencia de especies fúngicas con potencial patógeno para esta especie de caimán. En este contexto, la identificación de especies con roles ecológicos biótrosos y/o patógenos, realizada en este capítulo, constituyen el primer paso para el desarrollo de estudios que consideren la interacción entre estos hongos patógenos y *C. latirostris*.

El proceso por el cual los restos vegetales son alterados y retornan al ambiente es variado, por lo tanto es inevitable que los nichos y estrategias tróficas de los hongos se solapen. Según CANNON Y SUTTON (2004) una gran proporción de hongos colonizadores de tejido vivo se vuelven saprobios cuando el hospedador muere. Por el tipo de material analizado (restos vegetales de los nidos de yacaré) el mayor porcentaje de hongos responde a la saprotrofia como hábito nutricional; en general el agrupamiento de las especies identificadas en saprótrofos y/o patógenos (biótrosos) en los tres ambientes dio cuenta de una relación aproximada de 2:1 respectivamente. Estos resultados concuerdan con otros trabajos donde demuestran que los patógenos no constituyen una fracción considerable de las comunidades fúngicas (STONE ET AL. 2000, SANCHEZ MÁRQUEZ ET AL. 2008).

Diversidad Beta temporal y espacial:

Se puede observar que el agrupamiento, realizado con base en la similitud de los ensamblajes fúngicos de cada nido, muestra una tendencia a agrupar estos nidos según los años de muestreo (diversidad beta temporal). Según KOLEFF ET AL. (2003) la diversidad beta más allá de estar ligada con factores tales como la distancia entre los muestreos (en el espacio y el tiempo), está ligada a la heterogeneidad ambiental. Se puede observar que la heterogeneidad ambiental influye de manera clara sobre la composición de los ensamblajes fúngicos de cada nido en cada ambiente y esta variación temporal podría ser consecuencia de cambios en la intensidad de varios factores climáticos durante los años de muestreo.

Una posible explicación para estos agrupamientos podría ser las diferentes intensidades de eventos ENOS (Fenómenos El Niño – La Niña/ Oscilación Sur) entre 2009 y 2011, estos eventos producen cambios en los patrones de precipitación, temperatura y otras variables, lo que resulta en inundaciones y sequías (HEINZENKNECHT 2005). La intensidad y la presencia-ausencia de estos eventos se miden a través del índice MEI (multivariate ENSO index, WOLTER 2004). Valores negativos del mismo reporta una fase ENOS de La Niña y valores positivos una fase ENOS de El Niño y cuanto más extremos son los valores más intensos son los mismos. Durante la época de muestreo entre 2009 y 2010 las zonas de muestreo estaban bajo la influencia de la fase ENOS de La Niña (leve, MEI (enero-febrero) = -0.715) y El Niño (fuerte, MEI (enero-febrero) = 1.52), respectivamente. Por lo que si consideramos que estos índices indican un año con mayor cantidad de lluvia (2010; año muy húmedo) y otro año seco pero con eventos de lluvias (2009; relativamente normal) (SIMONCINI COM. PERS) durante la temporada reproductiva del yacaré overo, presenta lógica que los nidos muestreados durante esos años se agrupen en un mismo cluster con valores de similitud algo más elevados entre si (FIG 2.2.9, azul y rojo). Durante el año 2011,

los sitios de muestreo, estaban bajo la influencia de la fase ENOS de La Niña (fuerte; MEI (enero-febrero) = -1.56; evento más extremo de sequía durante este año) lo que indicaría un año mucho más seco con respecto a los anteriores y por tanto el agrupamiento de los nidos de ese año podría ser consecuencia de esas condiciones. Una posible explicación para los agrupamientos según los años de muestreo podría coincidir con lo propuesto por RUOKOLAINEN (2009) donde explica que las variaciones espacio-temporales del ambiente físico operan modificando procesos biológicos en la naturaleza y hay que tener en cuenta que los diferentes procesos biológicos están afectados por la estocasticidad ambiental, esta estocasticidad del ambiente generaría un aumento en la diversidad de un sitio y cambios en los patrones de abundancias de las especies observadas a través del tiempo.

Durante los años 2010 y 2011 se puede observar una tendencia de agrupamiento por ambientes de nidificación en base a los datos de presencia-ausencia de hongos. Se observa con mayor claridad que los ensamblajes fúngicos de los nidos del ambiente de nidificación embalsado son más similares entre sí y lo mismo sucedería para los nidos del ambiente sabana. Estos últimos presentan, entre sí, los valores de similitud más elevados durante el año 2011 y forma un cluster separándose de los embalsados del año 2010. Los hongos identificados durante el año 2009 no seguirían esta tendencia de lo cual se podría entender que las condiciones climáticas de ese año tuvieron mayor influencia sobre las comunidades fúngicas. En otros trabajos se ha postulado que la temperatura del suelo y la disponibilidad de agua pueden ser críticas para la composición y estructura de las comunidades de hongos (BRADBURY Y FIRESTONE 2012). No obstante según estos autores y a la luz de sus resultados concluyen que si bien el clima es un factor importante en la determinación de la estructura de la comunidad fúngica, ciertamente, no es el único ya que se deben considerar además: factores biológicos (requerimientos de hábitats, pH, salinidad, etc.) e interacciones biológicas. Dentro de los diversos factores que afectan la distribución de los

hongos en un sitio determinado, varios autores sugieren que esa distribución también está influenciada por la vegetación del lugar (FISHER ET AL. 1994, CANNON Y SUTTON 2004, SARAVANAKUMAR Y KAVIYARASAN 2010, SEIFER ET AL. 2011). A juzgar por los resultados obtenidos, también se observa que el clima sería un factor importante, pero no determinante, que regularía las comunidades fúngicas ya que una segunda tendencia en los resultados muestra que los ensamblajes fúngicos de nidos del mismo ambiente de nidificación se agruparon con valores más elevados de similitud en composición de especies. Estos agrupamientos según el ambiente de nidificación son útiles como evidencia para demostrar que la diversidad taxonómica y la variedad estructural de los taxones de plantas influyen sobre la diversidad microfúngica de cada ambiente.

El grado de recambio de especies de hongos entre los distintos ambientes de nidificación fue intermedio, estos valores son consistentes con comunidades disimiles donde la tasa de recambio de especies entre hábitats afecta la composición específica de las mismas. Esta disimilitud entre los ensamblajes de la comunidad se sustenta además, por los valores de complementariedad obtenidos, por lo tanto las diferentes características de los ambientes en cuanto a su composición florística y características físicas propiciarían el establecimiento de diferentes especies fúngicas en los nidos. Sin embargo el análisis de afinidad o cluster con base en la composición de especies fúngicas de los tres ambientes de nidificación (diversidad beta espacial) agrupó la comunidad fúngica de monte y la comunidad fúngica de sabana (en este caso con una similitud no mayor del 43%). Esto podría ser en parte consecuencia de la similitud en cuanto a la composición florística y estructural de dichos ambientes, ambos son zonas más secas con respecto al embalsado y su composición florística tiene mayor carácter transicional. Esto se puede observar en los resultados obtenidos en el capítulo 1 (FIG 1.3 y descripciones posteriores) donde se observó que estos ambientes son más similares entre sí en cuanto a la flora censada que con respecto al embalsado. Por esta razón la disponibilidad de sustratos similares, para su descomposición, en el

ambiente de nidificación de monte y el ambiente de nidificación de sabana favorecería el desarrollo de comunidades fúngicas con más especies en común en comparación con la comunidad fúngica de los embalsados.

En resumen, los resultados obtenidos permitieron reconocer que las comunidades fúngicas se correlacionan con las características de cada ambiente, ya sea por su especificidad con algunos hospedadores (composición florística de cada sitio de nidificación) o por sus requerimientos en cuanto a las características ecológicas del hábitat (ambientes acuáticos o de bosque). Es decir, las distintas especies (tanto cosmopolitas como raras) responden en general a las diferencias en la composición florística de los nidos de cada ambiente, como también a la diversidad en la flora de cada sitio de nidificación (Capítulo 1). Además se puede observar que variaciones climáticas durante los diferentes años de muestreo ejercen una influencia en la composición específica de los ensamblajes fúngicos de cada nido. Aunque se ha planteado que estas variaciones ambientales parecen ser un factor importante que determinaría la estructura de cada comunidad fúngica, con estos resultados se aportan evidencias coincidentes con lo expuesto por varios autores que manifiestan que estos cambios climáticos no son el único factor que influye sobre las comunidades fúngicas. Además, este trabajo también permitió ampliar la distribución geográfica de algunas especies como: *Halenospora varia*, *Epulorhiza* anamorfo *Tulasnella calospora*, *Clathrosphaerina zalewskii* y reconocer la presencia de hongos patógenos con un conocido efecto negativo en otros reptiles. Estos hongos, a su vez podrían afectar tanto la nidada como la condición física del yacaré overo como hospedador.

ANEXO



Capítulo 2

Tabla 2.2.1: Lista de Especies Fúngicas, los valores de abundancias absolutas de las especies en cada ambiente de nidificación y su modo de nutrición (S = saprótrofos, P = patógenos).

Lista de especies fúngicas	Nidos Sabana	Nidos Embalsado	Nidos de Monte	Nutrición
<i>Acremonium</i> sp.	6	37	2	S
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	6	25	25	P
<i>Arthrotrrys oligospora</i> Fresen.			6	S
<i>Arthrotrrys</i> sp.		1		S
<i>Arthrographis alba</i> Gené, Ulfing & Guarro	11	6	1	S
<i>Aspergillus brasiliensis</i> Varga, Frisvad & Samson			2	P
<i>Bulbillos dematiáceos esteriles</i>		21	1	
<i>Bulbillos hialinos esteriles</i>	5	13	4	
<i>Calonectria morganii</i> Crous, Alfenas & M.J. Wingf.		1		P
<i>Ceratocystis</i> sp.		3		P
<i>Chaetomium aff. cuniculorum</i> Fuckel		1		S
<i>Chaetomium aff. elatum</i> Kunze	5			S
<i>Chaetomium</i> sp.	4	36	27	S
<i>Chaetophoma</i> sp.		9	1	S
<i>Chaetosphaeria vermicularioides</i> (Sacc. & Roum.) W. Gams & Hol.-Jech.		8		S
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	1	6	1	S
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk. & M.A. Curtis		15		S
<i>Cladosporium</i> sp.	1	8	17	S
<i>Clathrosphaerina zalewskii</i> Beverw.	17	7		S
<i>Cochliobolus cymbopogonis</i> J.A. Hall & Sivan.	1	3		P
<i>Cochliobolus lunatus</i> R.R. Nelson & F.A. Haasis	6	16	1	P
<i>Colletotrichum</i> sp.		1		P
<i>Cordana musae</i> (Zimm.) Höhn.			2	P
<i>Cunninghamella echinulata</i> (Thaxt.) Thaxt.		1	7	S
<i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zinssm.) Scholten			1	P

<i>Cylindrocarpon ianthothele</i> Wollenw.		2	2	P
<i>Dactylaria parvispora</i> (Preuss) de Hoog & Arx	2	5		S
<i>Dactylaria candidula</i> (Höhn.) G.C. Bhatt & W.B. Kendr.		2		S
<i>Dactylaria fusiformis</i> Shearer & J.L. Crane	1	31	4	S
<i>Dactylaria</i> sp.	5	1		S
<i>Dactylella rhopalota</i> Drechsler	4	33	7	S
<i>Drechslera erythrospila</i> (Drechs.) Shoem		1		P
<i>Drechslera biseptata</i> (Sacc. & Roum.) M.J. Richardson & E.M. Fraser	56	15		P
<i>Epicoccum nigrum</i> Link		2	4	P
<i>Epulorhiza anamorfo Tulasnella calospora</i> (Boud.) Juel.	1		2	S
<i>Fusarium aff. poae</i> (Peck) Wollenw.		1		P
<i>Fusarium incarnatum</i> (Desm.) Sacc.		7		P
<i>Fusarium aff. acutatum</i> Nirenberg & O'Donnell		1		P
<i>Fusarium aff. circinatum</i> Nirenberg & O'Donnell		25		P
<i>Fusarium aff. redolens</i> Wollenw.		4		P
<i>Fusarium guttiforme</i> Nirenberg & O'Donnell		1	2	P
<i>Fusarium oxysporum</i> E.F. Sm. & Swingle	5	35	14	P
<i>Fusarium redolens</i> Wollenw.	1	1		P
<i>Fusarium</i> sp.	2	6	1	P
<i>Gibberella aff. tricineta</i> El-Gholl, McRitchie, Schoult. & Ridings		1		P
<i>Gibberella fujikuroi</i> (Sawada) Wollenw.	11	3	3	P
<i>Gilmaniella humicola</i> G.L. Barron		7		S
<i>Gliocladium</i> sp.	1			S
<i>Gonytrichum mirabile</i> Hol.-Jech.			3	S
<i>Gyrothrix flagella</i> (Cooke & Ellis) Piroz.	2			S
<i>Halenospora varia</i> (Anastasiou) E.B.G. Jones	1			S
<i>Helicomyces tenuis</i> Speg.		18		S
<i>Helicosporium</i> sp.		1		S
<i>Humicola</i> sp.	5	4	1	S

<i>Khuskia oryzae</i> H.J. Huds.		9		P
Levaduras	79	76	21	
<i>Metacordyceps chlamydosporia</i> (H.C. Evans) G.H. Sung, J.M. Sung, Hywel-Jones & Spatafora	1			S
<i>Micelio dematiáceo estéril</i>	2	22	2	
<i>Micelio hialino estéril</i>	18	41	15	
<i>Mirandina corticola</i> G. Arnaud ex Matsush.		4		S
<i>Mirandina dactyloides</i> Matsush	5	6		S
<i>Mirandina</i> G. Arnaud ex Matsush.		5		S
<i>Mortierella</i> sp.			3	S
<i>Mucor racemosus</i> Fresen.	4	1	4	P
<i>Myrmecridium schulzeri</i> aff. var. <i>tritici</i> (M.B. Ellis) Arzanlou, W. Gams & Crous	1			P
<i>Myrothecium verrucaria</i> (Alb. & Schwein.) Ditmar	1		27	S
<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom		1		S
<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom Ξ <i>Penicillium</i> aff. <i>kabunicum</i> Baghd.		5		S
<i>Penicillium simplicissimum</i> (Oudem.) Thom Ξ <i>Penicillium cremeogriseum</i> Chalab.		1		S
<i>Penicillium citrinum</i> Sopp		2		S
<i>Penicillium</i> sp.		4	1	S
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx		3	1	S
<i>Periconia echinochloae</i> (Bat.) M.B. Ellis		4		S
<i>Periconia</i> sp.		1		S
<i>Phaeostalagmus tenuissimus</i> (Corda) W. Gams & Hol. Jech.		1		S
<i>Phoma</i> sp.		2		P
<i>Pleurophragmium</i> Costantin	3			S
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Hywel-Jones & Samson		1		S

<i>Ramichloridium torvi</i> (Ellis & Everh.) de Hoog	64	15	3	P
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill.	2		1	S
<i>Rhodotorula</i> F.C. Harrison		1		S
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb.		4	2	S
<i>Sarocladium strictum</i> (W. Gams) Summerb.	6	42	1	S
<i>Sordaria</i> Ces. & De Not.		2		S
<i>Sporochisma saccardoi</i> E. W. Mason & S. Hughes	1			S
<i>Staphylotrichum coccosporum</i> J.A. Mey. & Nicot	1		1	S
<i>Talaromyces diversus</i> (Raper & Fennell) Samson, Yilmaz & Frisvad		1		P
<i>Talaromyces phialosporus</i> (Udagawa) Samson, Yilmaz & Frisvad		1		P
<i>Talaromyces rugulosus</i> (Thom) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert			2	P
<i>Taphophyla aff. cornu-capreoli</i>		1		S
<i>Tetraplospheeria tetraploa</i> (Scheuer) Kaz. Tanaka & K. Hiray.	5	70		S
<i>Thielavia terricola</i> (J.C. Gilman & E.V. Abbott) C.W. Emmons	42	47		S
<i>Trichoderma viride</i> Pers.	1	1	1	S
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	8		3	S
<i>Trichoderma koningii</i> Oudem.	1	1	5	S
<i>Trichoderma</i> sp.	24	21	6	S
<i>Troposporella monospora</i> (W.B. Kendr.) M.B. Ellis		32		S
<i>Verticillium</i> sp.		2		S
<i>Volutella ciliata</i> (Alb. & Schwein.) Fr.			1	S
<i>Xepicula leucotricha</i> (Peck) Nag Raj		9	5	S
<i>Zasmidium cellare</i> (Pers.) Fr.	18	6		S
Abundancia de Hongos/Abundancia de UFCs (N)	474	877	246	
Riqueza de Especies (S)	46	80	46	

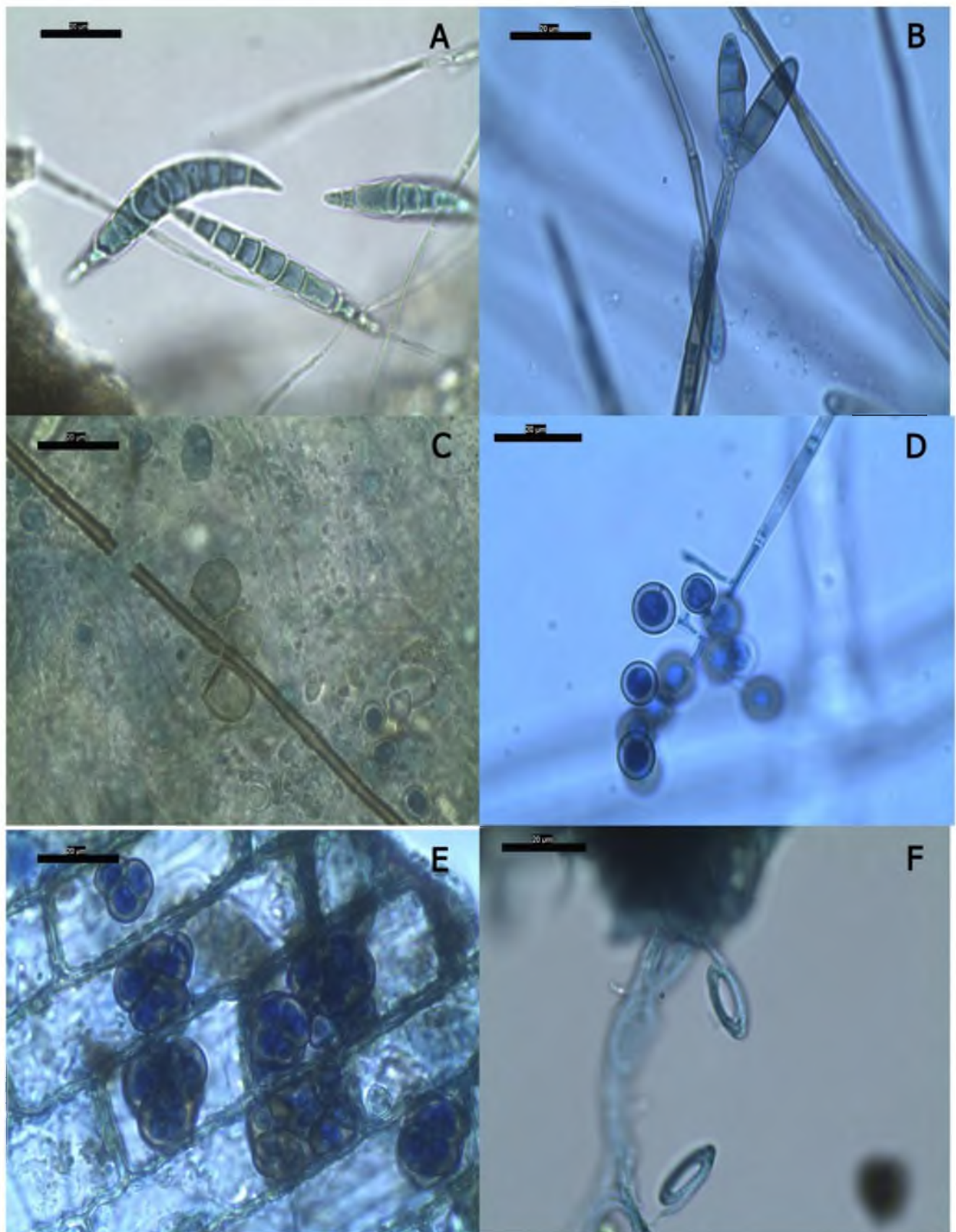


Fig. 2.2.11: **A** – *Mirandina dactylelloides*, **B** – *Dactylaria parvispora*,
C – *Cordana musae*, **D** – *Staphylotrichum coccosporum*,
E – *Metacordyceps chlamydosporia*, **F** – *Helicomyces tenuis*
A – F: Escala = 20 µm (100 x)

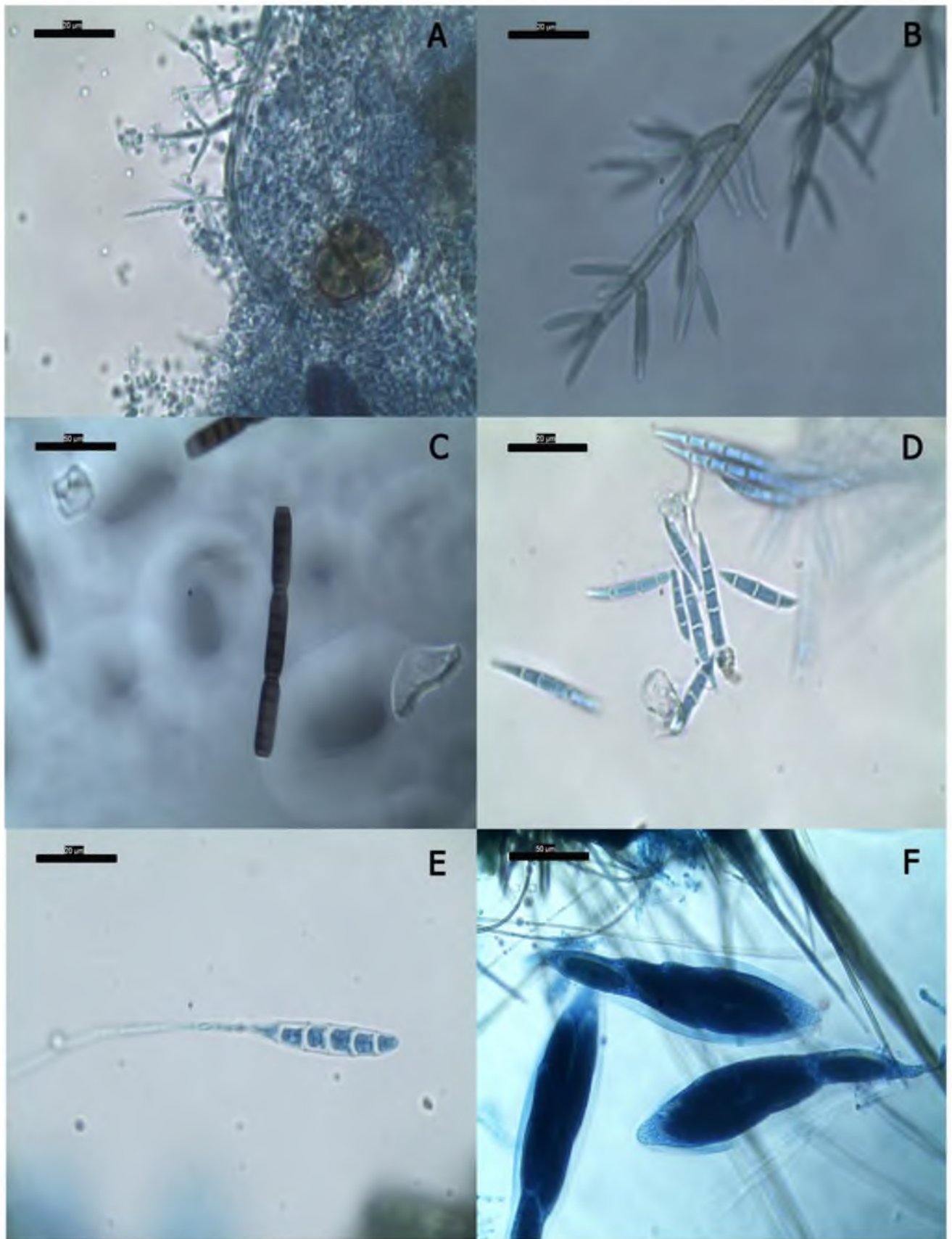


Fig. 2.2.12: A – *Trichoderma* sp.; B – *Verticillium* sp.; C – *Melanochaeta hemipsila*;
D – *Fusarium* sp.; E – *Dactylella rhopalota*; F – *Chaetomium* sp.
A – E: Escala = 20 μm (100 x); F: Escala = 50 μm (46 x)

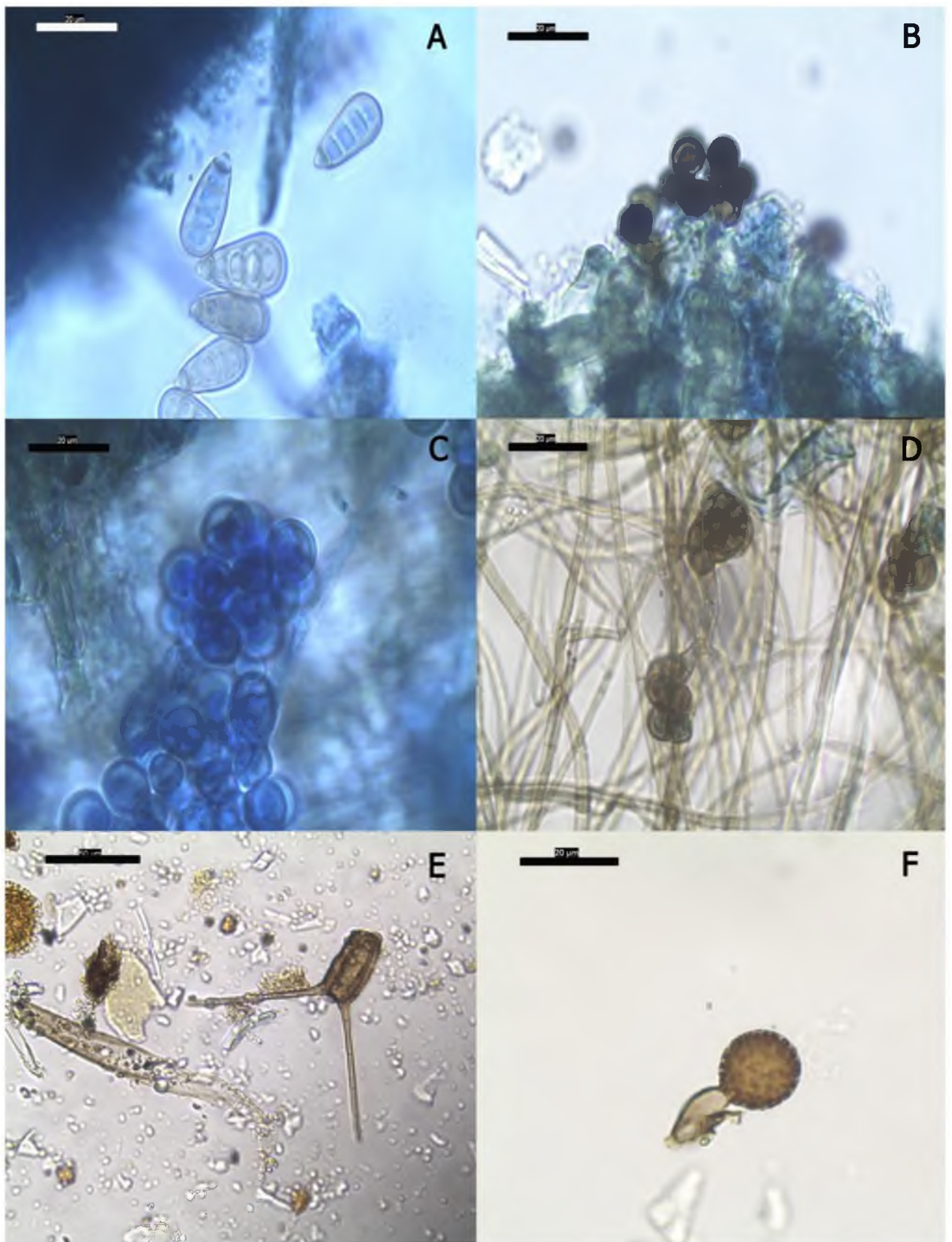


Fig. 2.2.13: **A** – *Drechslera biseptata*; **B** – *Gilmaniella humicola*;
C – *Epulorhiza* anamorfo *Tulasnella calospora*;
D – *Halenospora varia*; **E** – *Tetrasplosphaeria tetraploa*;
F – *Pericornia* sp.; **A – F:** Escala = 20 µm (100 x)



Microhongos
filamentosos en
cloacas y huevos
de
Caiman latirostris

Capítulo 3

3.1 Micobiota en Cloacas de Hembras de *Caiman latirostris* y su relación con el Índice Corporal de los individuos

3.1.1 ANTECEDENTES

Los hongos son considerados organismos ubicuos en la naturaleza y aunque es común su presencia en muestras de tejidos (e.g piel, intestinos, pulmones, etc.) de distintas especies de reptiles, que están en contacto con el agua y el suelo de los lugares que habitan (MITCHELL Y TULLY 2009), la información disponible detallando que especies se pueden hallar, en general, es escasa. Algunos autores sugieren que la micobiota cutánea o gastrointestinal de los reptiles es rica y variada (AUSTWICK Y KEYMER 1981, MIGAKI ET AL. 1984) reconociéndose unas pocas contribuciones en tortugas marinas (PHILLOT ET AL. 2002), lagartos gigantes (Género *Gallotia*, MARTÍNEZ SILVESTRE ET AL. 2003) y cocodrilos (HUCHZERMEYER 2003). Además existen registros de aislamiento de hongos en cocodrilos, en condiciones de cautividad (BUENVIAJE ET AL. 1994, BUENVIAJE ET AL. 1998, THOMAS ET AL. 2002, MITCHELL Y TULLY 2009).

En algunos casos, la presencia de hongos está asociada a enfermedades (JACOBSON ET AL. 2000). No obstante, la proporción de afecciones micóticas que son transmisibles o contagiosas es baja (JACOBSON ET AL. 2000) y la mayoría de los hongos presentes en los organismos son invasores oportunistas del integumento, el sistema respiratorio y el tracto gastrointestinal y podrían convertirse en patógenos con cambios en el estado inmunológico o ecológico del animal hospedador (SUMMERBELL 2004). Estudios publicados en anfibios (DENSMORE Y GREEN 2007) y reptiles (BUENVIAJE ET AL. 1994, MILLER ET AL. 2004, GARTRELL Y HARE 2005) demostraron una relación negativa entre la condición corporal del animal y la presencia de hongos.

Por lo expuesto, la identificación y descripción de la micobiota (cutánea, cloacal, bucal, etc.) en animales salvajes es, indudablemente, el primer paso para conocer la composición micótica asociada a una especie e interpretar los posibles efectos patógenos con potencial incidencia en la supervivencia de las poblaciones silvestres (SUMMERBELL 2004). Para el caso particular de *Caiman latirostris* hasta el momento de esta contribución, se desconocía la composición de la micobiota vinculada a la especie y por consiguiente si tiene algún efecto negativo para esta especie. Ante esta situación, se proponen desarrollar los siguientes objetivos:

3.1.2 OBJETIVOS

- Describir la micobiota cloacal de hembras de *Caiman latirostris*.
- Determinar si existe una relación negativa entre los valores de abundancia de hongos y el Índice de masa corporal.

3.1.3 MATERIALES Y METODOS

Sitios de muestreos: los sitios de la provincia de Santa Fe que se consideraron para este muestreo fueron: Fisco (Dpto. San Cristobal) (n = 8; 30°11'43.56"S, 61°0'38.94"O); campo "El Cacique" (Dpto. San Javier) (n = 2; 30°38'1.00"S, 60°17'34.50"O); Los Saladillos (Dpto. San Justo) (n = 2; 30°42'59.5"S, 60°17'47.3"O) y Espín (Dpto. Vera) (n = 1; 29°56'12.94"S, 60°3'43.85"O) (FIG 3.1.1). Se tomaron muestras de las cloacas de hembras (hisopado) de *C. latirostris* durante la época de postura desde los meses de Enero a Febrero del año 2011, en la provincia de Santa Fe (FIG 3.1.2).

Las hembras que fueron capturadas junto a los nidos en sus hábitats naturales (n = 13) midieron en promedio de Largo Total (LT) 155.7 ± 9.2 cm; de Largo Hocico-Cloaca (LHC) 79.3 ± 2.9 cm y el Peso promedio fue de 16.5 ± 1.9 g.

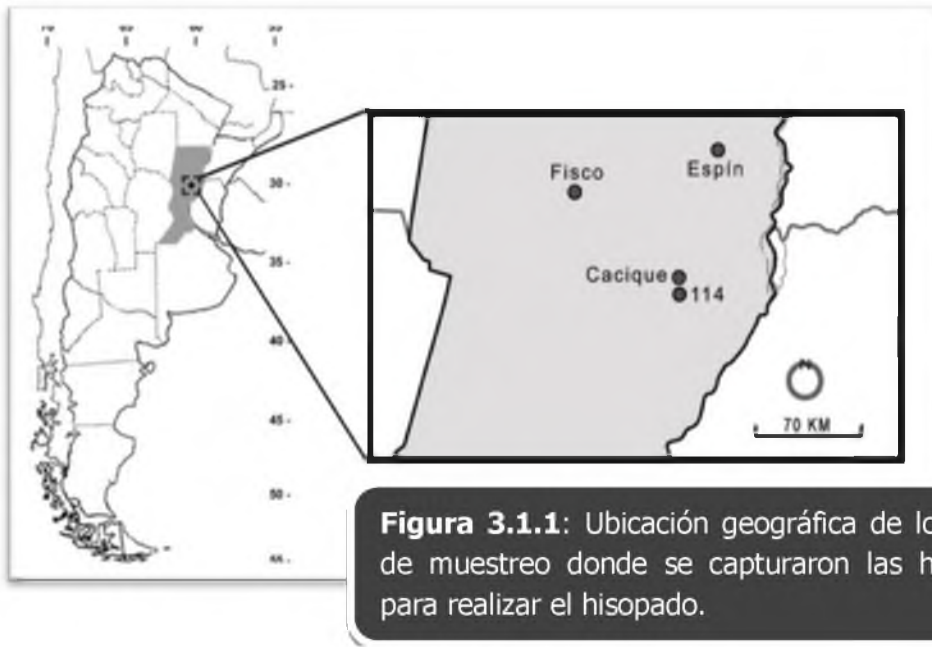


Figura 3.1.1: Ubicación geográfica de los sitios de muestreo donde se capturaron las hembras para realizar el hisopado.

Metodología de hisopado: los hisopos utilizados durante el trabajo de campo fueron envueltos previamente en papel de aluminio y esterilizados. El proceso de esterilización se realizó en autoclave durante una hora a 200°C y 1 atmósfera de presión. Finalizado este proceso los hisopos envueltos fueron introducidos en bolsas esterilizadas con cierre hermético y se conservaron refrigeradas a aproximadamente 4°C hasta su utilización.

El hisopado se realizó en el borde interior de la cloaca (profundidad aproximada de 2 cm), donde reposa el clítoris, en cada animal (NUÑEZ OTAÑO ET AL. 2010). Una vez terminado el proceso de hisopado las muestras fueron conservadas en frío y transportadas al laboratorio (Proyecto Yacaré – Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados, Santa Fe) donde se mantuvieron en heladera hasta su procesamiento en el laboratorio (Instituto Botánica Spegazzini, FCNyM, La Plata).

Procesamiento de las muestras, aislamiento e identificación de hongos filamentosos: se realizaron estrías, con los hisopos, en cajas de Petri con medio de cultivo (agar malta 20%; 20 g. malta, 1 g. peptona, 20 g. de agar y 20 g. glucosa) y antibiótico (estreptomicina, 5 mg. ml⁻¹ y cloranfenicol, 2.5 mg. ml⁻¹) para evitar el crecimiento excesivo de bacterias. Las cajas sembradas se mantuvieron bajo condiciones naturales de temperatura y fotoperiodo. Posteriormente, se examinaron las cajas macroscópicamente (lupa estereoscópica Wild Heerbrugg – Plan 1x) para la separación de las colonias en los casos donde podría haber superposición de las mismas. Esta separación se realizó considerando, generalmente, el aspecto a simple vista de cada colonia con el fin de que la contaminación no afecte el aislamiento e identificación específica (FIG 3.1.3).



Figura 3.1.2: A - Hembra capturada.
B - Cloaca hembra *C. latirostris*.

Luego de un mínimo de 7 días, se inspeccionaron nuevamente las colonias macroscópicamente (lupa estereoscópica) y microscópicamente (Leitz-Dialux 20 EB). La determinación específica de los hongos se realizó siguiendo las metodologías clásicas en micología (comparación taxonómica usando claves,

descripciones e ilustraciones que se encuentran disponibles en la bibliografía). Para poder realizar estas comparaciones e identificaciones en los cultivos se realizaron preparados semi-permanentes tiñendo las muestras con Azul de algodón (Lactophenol).

Análisis de los datos: se realizó una lista de especies fúngicas y se cuantificó la abundancia de las mismas considerando como un individuo a cada unidad formadora de colonia (UFC) o colonia aislada de cada caja de Petri. Los cultivos identificados se almacenaron en el cepario del Instituto de Botánica C. Spegazzini (La Plata, Buenos Aires, Argentina), con el código LPSC 1103 hasta LPSC 1120.

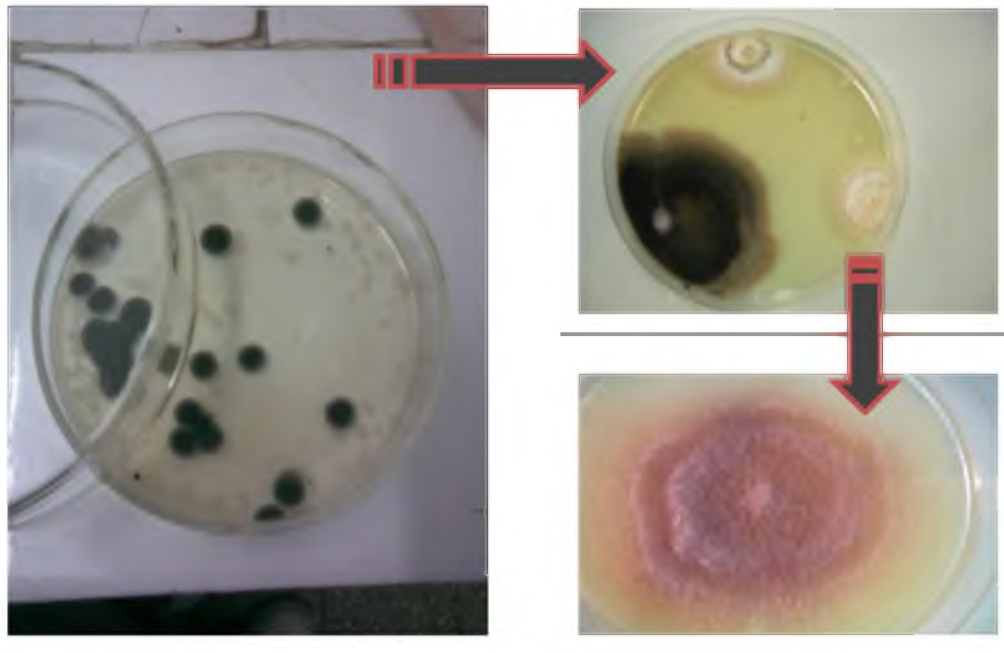


Figura 3.1.3: Proceso de aislamiento de colonias puras.

Las especies identificadas se agruparon usando como criterio los modos econutricionales de cada una, siendo estos: Biótrofos – Patógenos, Saprótrofos y Micelia sterilia (donde se agruparon los micelios estériles aislados) (COOKE Y WHIPPS, 1993).

Para el cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC) se consideraron los valores residuales de la regresión lineal entre tamaño del cuerpo (LHC en este caso) y peso corporal, como se usa comúnmente. Los individuos con valores residuales positivos fueron considerados como animales con mejor condición corporal que los animales con valores de IMC negativos (JAKOB ET AL. 1996, LITZGUS ET AL. 2008). Los cálculos de los residuales de la relación LHC y peso corporal se realizaron sobre datos transformados (Log en base 10) con el programa INFOSTAT (INFOSTAT VERSIÓN 2008). Los valores de IMC versus las abundancias de hongos en cada grupo (biótrofos – patógenos y saprótrofos) se analizaron con una regresión lineal entre estas variables.

3.1.4 RESULTADOS

Se hallaron hongos en 9 de 13 muestras cloacales (69.2%), 5 hembras de 9 (55.6%) fueron positivas para una especie de hongo y el resto (4 hembras de 9; 44.4%) resultaron positivas para más de una especie de hongos. La ocurrencia de múltiples aislamientos (más de dos especies fúngicas) en un solo hospedador fue poco común, y sólo se aislaron múltiples especies en una hembra. Se hallaron distintas distribuciones en las ocurrencias de hongos en los animales cuyo hisopado resultó positivo (TABLA 3.1), reconociéndose: hongos filamentosos (n = 19 UFC), levaduras (n = 7 UFC) y hongos estériles (n = 3 UFC).

En total se aislaron 11 géneros, 14 especies y 29 UFC; entre las especies más comunes fueron aislados *Aspergillus brasiliensis* (= *Aspergillus niger* Tiegh.) (13.8%; n = 4 CFU; 3 de 13 hembras muestreadas) (FIG 3.1.4, A) y *Alternaria alternata* (10.3%; n = 3 CFU) (FIG 3.1.4, B). Especies como *Fusarium redolens* (2 de 13 hembras muestreadas), *Chaetophoma sp* y *Scopulariopsis chartarum* presentaron una frecuencia relativa porcentual de 6.9% (n = 2 CFU) cada uno; mientras que para las especies *Acremonium fusidioides*, *Sarocladium strictum* (=

Acremonium strictum W. Gams), *Cirrenalia donnae*, *Epicoccum nigrum* (= *Epicoccum purpurascens* Ehrenb.), *Trichoderma harzianum* y *Zygosporium echinosporum* se aislaron y determinaron una UFC (3.4%) para cada especie. Otros aislamientos fúngicos incluyeron a: *Micelia sterilia* y *Bulbos dematiáceos estériles*.

El total de especies determinadas se agrupó de acuerdo a su estrategia econutricional y los resultados demostraron que el grupo de hongos saprótrofos tuvo valores mayores de abundancia porcentual que el grupo de hongos patógenos, levaduras y hongos estériles, respectivamente (TABLA 3.1.1). La abundancia total del grupo de hongos patógenos y hongos saprótrofos no estuvo relacionada con los valores de condición corporal de las hembras de *C. latirostris* ($p > 0.77$ en cada caso) (Tabla 3.1.2).

Tabla 3.1.1 Hongos identificados en hembras de *Caiman latirostris*. Lista de especies, porcentaje de ocurrencia de UFC (unidades formadoras de colonias) ($(n_i \text{ CFU}/\text{total CFU sampled}) * 100$) y porcentaje parcial de grupos nutricionales.

Grupos nutricionales	Especies fúngicas	% Ocurrencia de CFU	Porcentaje de grupos econutricionales
Patógenos	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	13,8	27,6
	<i>Acremonium fusidioides</i>	3,4	
	<i>Sarocladium strictum</i>	3,4	
	<i>Fusarium redolens</i>	6,9	
	<i>Alternaria alternata</i>	10,3	
Saprótrofos	<i>Cirrenalia donnae</i>	3,4	37,9
	<i>Chaetophoma sp.</i>	6,9	
	<i>Epicoccum nigrum</i>	3,4	
	<i>Scopulariopsis chartarum</i>	6,9	
	<i>Trichoderma harzianum</i>	3,4	
	<i>Zygosporium echinosporum</i>	3,4	
Levaduras	<i>Rhodotorula sp.</i>	24,1	24,1
	<i>Micelio hialino estéril</i>	3,45	
Hongos estériles	<i>Bulbillos dematiáceos</i>	6,90	10,34

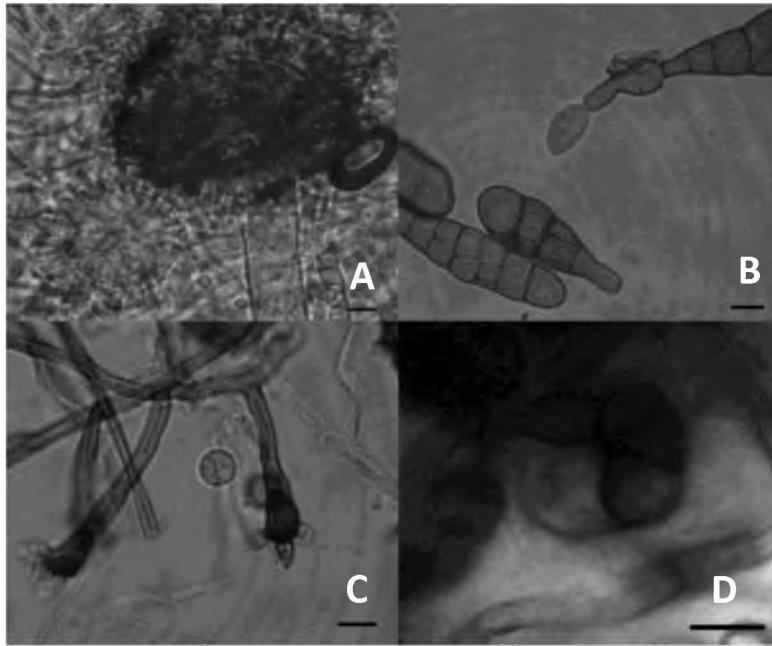


Figura 3.1.4:
 Especies fúngicas con valores elevados de abundancia de UFC:
(A) *Aspergillus brasiliensis* (25x) y **(B)** *Alternaria alternata* (40x). Hongos citados por primera vez para la región: **(C)** *Zygosporium echinosporum* (40x) y **(D)** *Cirrenalia donnae* (40x).
 Escala: 6 μ m

Tabla 3.1.2: Valores de IMC (Índice de masa corporal) de cada hembra capturada. Abundancia de hongos saprófitos y patógenos en cada hisopado.

Hembras	Índice Masa Corporal (IMC)	Biótrofos (patógenos)	Saprófitos
48	0.02	1	1
49	-0.02	1	0
51	0.05	0	2
52	0.05	1	0
53	0.01	1	1
57	0.01	0	0
58	-0.03	2	0
59	-0.02	0	0
60	-0.01	6	8
61	0	0	0
62	-0.01	0	1
64	-0.03	0	0
65	-0.04	0	1

3.1.5 DISCUSION

Como se identificó en este trabajo, entre los hongos mas abundantes, *Aspergillus brasiliensis* fue aislado también de la piel y contenido intestinal de *Crocodylus porosus*, *Osteolaemus tetraspis* y *Alligator mississippiensis* (BUENVIAJE ET AL. 1994, HIBBERD ET AL. 1996); mientras que *Alternaria alternata*, también identificada aquí como uno de los hongos con mayor abundancia, fue aislada en la piel de *Alligator mississippiensis* y como constituyente normal de la micobiota cutánea en otros reptiles (PARÉ ET AL. 2003). Respecto a *Fusarium redolens* fue identificada en dos muestras de cloaca de hembras y es conocida para numerosas plantas hospedadoras donde actúa como fitopatógeno, estando ampliamente distribuida en zonas templadas y tropicales (DOMSCH ET AL. 1993).

Tanto *Aspergillus brasiliensis* como especies del género *Fusarium* están mencionadas repetidamente en neumonías micóticas en cocodrilos (LADDS 2009). Además, para especies del género *Fusarium* existen varias contribuciones que lo reconocen causante de micosis, en general, en reptiles (CABAÑES ET AL. 1997, HOLZ Y SLOCOMBE 2000, DAVIS 2001, PHILLOT ET AL. 2006), y en un caso particular, se ha identificado que la especie *Fusarium verticilloides* (= *F. moniliforme*) fue causante de una neumonía fúngica severa que resultó fatal en un alligatorido (FRELIER ET AL. 1985). No obstante, en los ejemplares estudiados no se observó evidencia física de micosis a pesar que estas especies fúngicas fueron las más abundantes en las muestras.

Entre las especies identificadas además, se encontró a *Scopulariopsis chartarum*. La mayoría de las especies de este género son hongos comunes de suelo y algunas pocas son patógenas de humanos (DOMSCH ET AL. 1993). Otro hongo identificado dentro de las muestras fue *Chaetophoma* sp., dentro de este género se reconocen especies mayormente tropicales y de zonas templadas que son capaces de crecer, reproducirse y sobrevivir en una gran variedad de hábitats (SUTTON 1980). Este género también fue aislado e identificado en ramas y restos

de raíces de material de nido de yacaré overo (ver listado de especies fúngicas presentadas en el capítulo 2).

Además fueron determinados, en esta contribución, *Epicoccum nigrum*, *Curvularia lunata*, *Sarocladium strictum*, *Acremonium fusidioides*, *Acremonium* sp. y *Trichoderma harzianum*. Existen reportes de *Epicoccum nigrum*, *Curvularia lunata*, *Acremonium* sp. y *Trichoderma* sp. en trabajos previos sobre la piel y contenido intestinal de *Osteolemus tetraspis* y *Alligator mississippiensis* (HUCHZERMAYER 2003). Respecto al género *Acremonium*, TREVINO (1972) lo documenta como agente causal de una neumonía granulomatosa difusa fatal y hepatitis necrótica focal en *Caiman crocodilus*. Sin embargo, este género es considerado como un patógeno oportunista de bajo grado (SUMMERBELL 2004).

Hasta el momento, no existían reportes de *Zygosporium echinosporum* y *Cirrenalia donnae* (FIG 3.1.4, D) en cocodrilos ni alligatoridos. En este contexto, los resultados obtenidos constituyen el primer registro de estos hongos saprótrofos para cocodrilianos. También se extiende la distribución geográfica de ambas especies para la Argentina ya que *Z. echinosporum* (FIG 3.1.4, C) fue citado previamente para Brasil (GUSMÃO ET AL. 2001) y Perú (MATSUSHIMA 1993) y *C. donnae* fue registrado en Canadá (SUTTON 1973) y en China (ZHAO Y LIU 2005).

También se reportaron *Mycelia sterilia* y Bulbos dematiáceos estériles, éstos corresponden a hongos de varios tipos morfológicos que no pueden ser identificados por ser defectuosos en el desarrollo de sus estructuras reproductivas (esporas) (AINSWORTH Y BISBY, 1983).

Las levaduras, como *Rhodotorula* sp., estuvieron representadas por el 24.1% en 4 de las 13 hembras muestreadas. Ésta también fue reportada, en otros trabajos, donde se muestrearon tejidos de pulmón, hígado y riñones de tortugas, lagartos y serpientes. Además, son altamente prevalentes en los intestinos de muchos reptiles (ENWEANI ET AL. 1997, REAVILL ET AL. 2004).

No se observó ninguna relación entre la abundancia de colonias y especies reportadas con los valores de Índice de Masa Corporal (IMC) de las hembras. Por lo tanto, con los resultados obtenidos no es posible utilizar esta relación para explicar, por ejemplo, el hallazgo e incidencia de 10 aislamientos fúngicos en tan solo una de las hembras muestreadas. En este sentido, valores elevados de abundancia de UFC por especie en cada muestra no serían, estrictamente consecuencia de una condición corporal empobrecida para las hembras de *C. latirostris* muestreadas. Es posible que la presencia de los hongos en las cloacas de las hembras de yacaré overo sea resultado de la contaminación producida a través del contacto de la cloaca con heces de otros animales que viven en el mismo ambiente, o durante la defecación (momento en el cual la cloaca hace contacto con el sustrato) donde parte del sustrato se acumula en el exterior de las mismas y/o durante la oviposición (por contacto con el sustrato que constituye los nidos) (PHILLOT ET AL. 2002, NARDONI ET AL. 2008).

En resumen, los resultados obtenidos muestran que los hongos reportados (TABLA 3.1.1) no son hospedadores específicos para cocodrilos y por esta razón pueden ser aislados en un amplio rango de animales con o sin evidencias físicas de micosis. Por otro lado, es probable que los hongos encontrados sean producto de la adquisición como propágulos en reposo de sedimentos aéreos, superficies con las que la cloaca de la hembra hace contacto o material ingerido por los animales. Como menciona NARDONI ET AL. (2008) el reporte de las mismas especies en distintas hembras sugiere que los animales podrían actuar como transportadores facultativos de hongos y levaduras en sus cloacas.

El hallazgo de especies fúngicas patógenas podría ser una herramienta útil para identificar potenciales patógenos capaces de ejercer un efecto negativo en caimanes silvestres.

3.2 "Microhongos filamentosos en cáscara y membranas de huevos de *Caiman latirostris*"

3.2.1 ANTECEDENTES

Las interacciones entre hongos y animales pueden tomar diversas formas y tener efectos significativos sobre éstos y por consiguiente en el ecosistema. Una forma de interacción posible entre hongos y *Caiman latirostris* estaría dada por la infección producida por parte de hongos patógenos sobre el animal, sus nidos, huevos o camadas. Muchos de estos hongos no son fatales por si mismos pero pueden influir significativamente en la salud de su hospedador reduciendo el crecimiento del mismo y su fecundidad, lo que tendría efectos en la dinámica poblacional de la especie afectada (DIGHTON 2003). Hasta el momento, los únicos antecedentes disponibles sobre la interacción entre hongos y huevos se reportan en nidos de tortugas (PHILLOT ET AL. 2004, ELSHAFIE ET AL. 2007, GÜÇLÜ ET AL. 2010), lagartijas (MOREIRA LOPES Y BARATA 2005), serpientes (PARÉ ET AL. 2003) y cocodrilos (BUENVIAJE ET AL. 1994, THOMAS ET AL. 2002).

Es conocido que las hembras de los reptiles conforman un nido en el cual oviponen varios huevos (estrategia reproductiva) uno al lado de otro (PIANKA Y VITT 2003). La presencia de unos pocos huevos colonizados por hongos facultativos (huevos en descomposición) podría promover la radiación de éstos al resto del nido afectando consecuentemente el desarrollo de los embriones y produciendo su muerte (COOKE Y WHIPPS 1993, PHILLOTT Y PARMETER 2001A, ROBINSON ET AL. 2003).

Las hembras pueden transferir algunos hongos a los huevos en el momento de la postura cuando estos pasan por las cloacas contaminadas (PHILLOT ET AL. 2002). Luego de la oviposición, la cascara también adquiere elementos contaminantes de las superficies con las que está en contacto (DE REU ET AL. 2006). Además el microambiente húmedo, cálido y con la presencia de materia orgánica

de los nidos de los reptiles es ideal para el desarrollo de hongos de suelo. Se ha planteado que los hongos en las cáscaras podrían contribuir positivamente mejorando el éxito de eclosión de la nidada (ya que estos actúan como descomponedores de la cáscaras) (FERGUSON 1982) pero también podrían afectar negativamente a partir de la producción de metabolitos secundarios que afectarían el desarrollo de los embriones (PATINO MARTINEZ ET AL. 2012).

Luego de producirse la transferencia de hongos a los huevos (cualquiera sea su origen), éstos son capaces de penetrar la cáscara a través de los poros y/o las fracturas en la misma (FERGUSON 1982, PAZ ET AL. 1995, WILLIAMS ET AL. 2000).

El trabajo realizado en este apartado, es el primero en considerar los hongos presentes en las cáscaras y membranas de los huevos de *Caiman latirostris* provenientes de nidos de ambientes naturales (FIG 3.2.1). Se espera que con los resultados obtenidos se aporte evidencia en relación a considerar a la cáscara como un filtro efectivo que actuaría como barrera de defensa del embrión en desarrollo. Por lo tanto, la riqueza y abundancia de hongos sería menor en la membrana en relación a la cáscara.



Figura 3.2.1: Huevos dentro del nido (Embalsado).

3.2.2 OBJETIVO

- Analizar la riqueza de especies fúngicas y abundancia de UFC de anamorfos de Ascomycota en las cáscaras y las membranas de huevos de *Caiman latirostris* proveniente de los tres ambientes de nidificación (monte, sabana y embalsado).

3.2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de Muestreo: durante la temporada reproductiva 2011 se colectaron huevos de nidos silvestres. Se colectó un huevo de cada nido encontrado, se procedió de esta manera ya que cada huevo colectado para este trabajo involucraba la muerte del embrión. Además este trabajo consistió en un análisis exploratorio, lo que no justificaba la colecta sistemática y muerte de los embriones hasta que se demuestre la relevancia del mismo.

Se colectaron huevos de nidos de sabana (n=2, 29° 56' 12.94" S; 60° 3' 43.85" O), monte (n = 1; 30° 38' 22.2" S; 60° 17' 07.2" O) y embalsados (n = 3; 30° 38' 1.00" S; 60° 17' 34.5" O). Las descripciones de los hábitats están especificados en el capítulo 1 y 2.1 de esta tesis. Uno de los huevos del ambiente de nidificación correspondiente a la sabana (S1, praderas) fue colectado en la segunda mitad del período de incubación y el resto de los huevos analizados se colectaron al principio del período de incubación (7 a 10 días desde la postura). Los huevos se colectaron en bolsas de plástico estériles tipo ziploc y se almacenaron a temperaturas entre 4 – 7 °C hasta que fueron procesados en el laboratorio.

Procesamiento de las muestras en el laboratorio: se procedió a separar las cáscaras de las membranas en cada uno de los huevos y cada una de las partes fueron sometidas a un primer lavado con agua destilada estéril para eliminar el exceso de materia orgánica que tenían adherida (FIG 3.2.2). Se realizó un segundo y tercer lavado para continuar eliminando los excesos de material

vegetal. Posteriormente se procesaron las cáscaras (CC) y membranas (MB) adaptando la técnica de lavados de partículas, descrita anteriormente y detallada en BILLS Y FOSTER (2004). Luego se secaron las partículas usando la bomba de vacío y se dejaron 24 hs para el secado completo en cajas de Petri esterilizadas con papel de filtro.

De cada sustrato se sembraron 5 partículas por cada caja de Petri descartable con medio de cultivo nutritivo (Agar Malta 20%; 20 g. malta, 1 g.



Fig. 3.2.2: Huevo predado donde se puede observar la cáscara, la membrana y la materia orgánica adherida.

peptona, 20 g. de Agar y 20 g. glucosa) y antibiótico (estreptomina, 5 mg ml⁻¹ y cloranfenicol, 2.5 mg ml⁻¹) para evitar el crecimiento excesivo de bacterias. Se repitió el procedimiento de cultivo en 5 cajas de Petri para cada sustrato, completando un total de 25 partículas de CC y MB por cada huevo. En total se analizaron 300 partículas. Las cajas se mantuvieron bajo condiciones naturales de temperatura y fotoperiodo. Posteriormente fueron examinadas macroscópicamente (Wild Heerbrugg – Plan 1x) y microscópicamente (Leitz-Dialux 20 EB) luego de un mínimo de 7 días desde la siembra. El proceso de identificación se llevó a cabo siguiendo los procesos taxonómicos clásicos, por medio del uso de claves de

identificación, descripciones e ilustraciones. El examen microscópico de los cultivos se realizó por medio de preparados semipermanentes teñidos con Azul de algodón (Lactophenol) y para la cuantificación de la abundancia de especies se consideró como un individuo a cada unidad formadora de colonia (UFC).

Por cuestiones de ordenamiento y claridad al momento del análisis de los datos se codificó cada huevo según su hábitat de nidificación: embalsado (EMB), monte (M) y sabana (S). Las especies determinadas se agruparon siguiendo la clasificación de grupos econutricionales de COOKE Y WHIPPS (1993) para poder analizar los hongos en grupos. Los cultivos se depositaron en el cepario del Instituto de Botánica C. Spegazzini (LPSC 2101 a LPSC 2138).

Análisis de los datos: Se construyeron curvas de acumulación de especies para cada sustrato (CC y MB) con EstimateS 8.2.0 (COLWELL 2009) para evaluar el esfuerzo de muestreo. Se utilizaron los datos de abundancia de UFC (N) de cada especie y se utilizó el CHAO 1 como estimador de la riqueza. Los análisis de diversidad alfa en cada sustrato se realizaron con el software PAST (HAMMER ET AL. 1999, PAleontologicalSTatistics v. 1.90), se obtuvieron los valores de: Riqueza (S), Abundancia (N), Equitatividad (J'), Dominancia (D) e Índice de Diversidad Shannon (H'). Se aplicaron modelos de distribución de abundancia para describir la relación que hay entre este valor y las unidades de muestreo (cajas de Petri) para Cáscaras y Membranas.

3.2.4 RESULTADOS

En el total de partículas analizadas de cáscaras y membranas de huevos (n = 300) se aislaron y determinaron 31 especies de hongos filamentosos y 129 UFCs. De la abundancia total de UFC de hongos el 71.3% (92 UFC de 129 UFC totales) se identificó en las cáscaras y 28.7% (37 UFC de 129 UFC) en las muestras de membranas. Considerando los valores de abundancia relativa las CC presentaron los valores más altos con respecto a las MB, excepto para las

muestras que pertenecieron al huevo colectado en la segunda mitad del periodo de incubación (S1) (TABLA 3.2.1 y FIG 3.2.3).

Considerando los valores calculados para S de las muestras (TABLA 3.2.1), se encontró un número mayor de especies en las muestras de cáscaras ($S_{\text{casc.}} = 17$) que representa el 54.8% del total de especies listadas para esta experiencia ($S_{\text{Total}} = 31$). De las especies identificadas en las muestras de cáscaras, 7 especies fueron exclusivas de estas muestras. Del total de especies identificadas en CC el 71.4% (5 especies de 7) fueron patógenos y el 28.6% restante (2 especies de 7) eran saprótrofos.

Por otro lado, en la membrana se determinó una $S_{\text{Memb}} = 24$ especies (77.4% del total listado en este trabajo), de esta riqueza para las membranas 14 especies fueron exclusivas de este sustrato (TABLA 3.2.1). Del agrupamiento de las especies según sus características econutricionales, los hongos patógenos representaron 57.1% (8 especies de 14) y el 42.8% (6 especies de 14) fueron hongos saprótrofos.

El porcentaje de especies aisladas e identificadas en ambos sustratos (especies en común) fue de 32.2% (10 especies de 31) (TABLA 3.2.1). *Syncephalastrum racemosum*, *Penicillium turolense* y Micelio estéril dematiáceo fueron aisladas de muestras de cáscaras y membranas de los mismos huevos (M1, S1 y S2; respectivamente). De estas especies podemos decir que *S. racemosum* fue el más persistente en las muestras de cáscaras en relación a las de membranas (23 UFC, Cáscaras: 6 CFU, Membranas) y las otras dos especies fueron especies raras en las muestras. El resto de las especies en común fueron registradas tanto en las cáscaras como en las membranas de diferentes huevos y en cada caso, las frecuencias de ocurrencia fueron mayores en las muestras de cáscaras (TABLA 3.2.1).

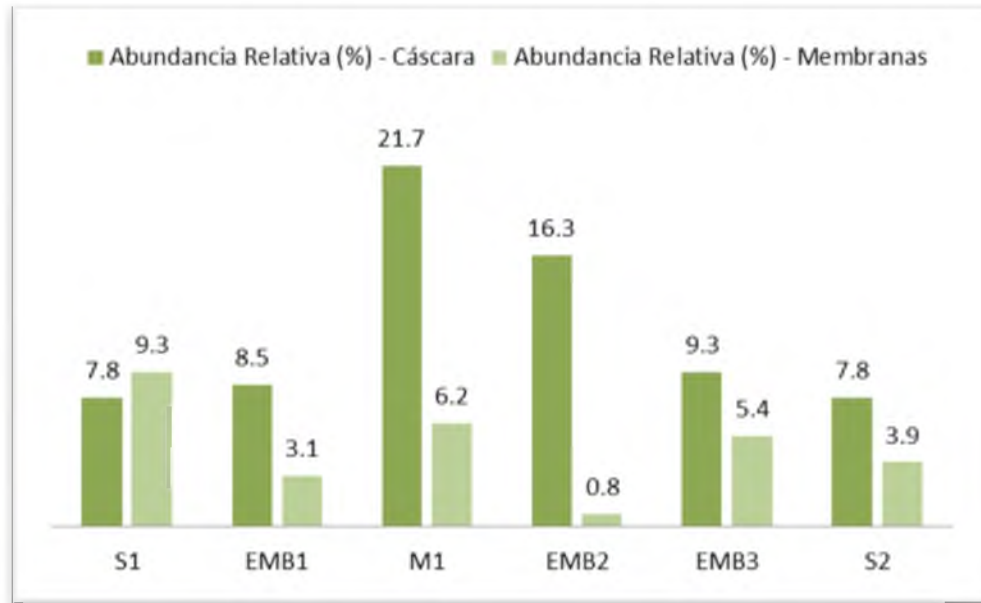


Figura 3.2.3: Abundancias Relativas porcentuales de UFCs (N_{UFC} de cada muestra / 129 UFCs) en muestras de **CC** = cáscaras (Barras verde oscuro) y **MB** = membana (Barras verde claro). S: hábitat sabana, EMB: hábitat Embalsado, y M: hábitat Monte.

Los análisis de diversidad arrojaron valores bajos de Dominancia (0.11 – 0.097) lo que se corresponde con valores altos de J' (0.83 – 0.91); el valor de H' fue elevado para las CC ($H' = 2.641$) con respecto a las MB ($H' = 2.578$) pero ésta diferencia no fue significativa entre ambos sustratos (Shannon diversity t-Test; $p = 0.4$).

Resultados para las muestras de Cáscaras:

La curva de acumulación usando CHAO 1 como estimador de la riqueza para las cáscaras, reveló que 72.7% de las especies esperadas para la cantidad de muestras procesadas (33 ± 7.62) ($CHAO\ 1 \pm CHAO\ 1\ SD$) fueron muestreadas (24 ± 2.46) ($S_{obs} \pm S_{obs}\ SD$) (FIG 3.2.4). Se registraron un total de 24 especies, de las cuales el 62.5% (15 especies de 24) pertenecieron al grupo de hongos biótrofos – saprótrofos, 25% (6 especies de 24) pertenecieron al grupo de biótrofos – patógenos, 8.3% (2 especies de 24) fueron hongos estériles (los cuales no fueron clasificados según su tipo de nutrición) y 4.2% (1 especie de 24) fueron levaduras.

Las riquezas específicas para cada huevo variaron en un rango de 7 especies – 5 especies.

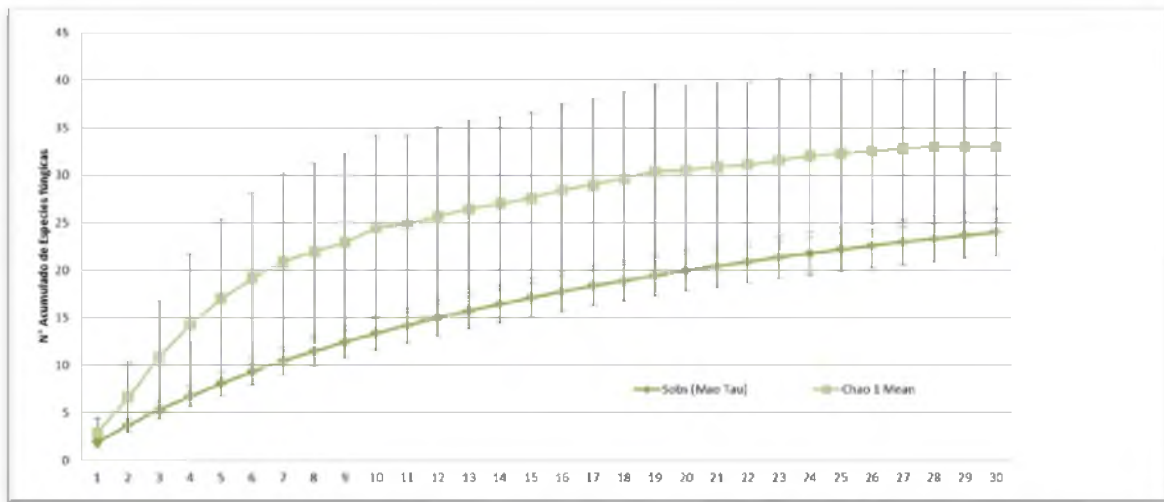


Figura 3.2.4: Curva de acumulación de Especies estimadas y Especies identificadas en cáscaras de *C. latirostris*. **Eje Y:** N° acumulado de especies (Riqueza acumulada de especies fúngicas); **Eje X:** Total de cajas de Petri sembradas para las 6 cáscaras de huevos procesados según el método de Lavado de partículas.

La abundancia total de UFCs cuantificada fue de 92 UFCs, la abundancia relativa porcentual para cada grupo econutricional fue del 64.1% (59 UFCs de 92) hongos biótrofos – saprótrofos, 25% (23 UFCs de 92) hongos biótrofos – patógenos, 5.4% (5 UFC de 92) son levaduras y 5.4% (5 UFC de 92) para hongos estériles. *Syncephalastrum racemosum* y *Rhizopus stolonifer* mostraron elevados valores de abundancia y juntos representan el 40.2% de la abundancia total para cáscaras. Con valores de abundancia de UFC intermedios se aislaron e identificaron 10 especies (de 7 UFC a 2 UFC) y 12 especies tuvieron abundancias de 1 UFC (especies raras) (TABLA 3.2.1). El modelo de distribución de la abundancia se ajustó a un modelo Log-Series ($p = 0.96$) (FIG 3.2.5. A).

Resultados para las muestras de membranas:

La curva de acumulación de especies usando CHAO 1 como estimador de la riqueza reveló que el 87.8% de las especies esperadas para la cantidad de muestras procesadas (19 ± 3.18) ($\text{CHAO } 1 \pm \text{CHAO } 1 \text{ SD}$) fueron reconocidas (17 ± 2.11) ($\text{Sobs} \pm \text{Sobs SD}$) (FIG 3.2.6).

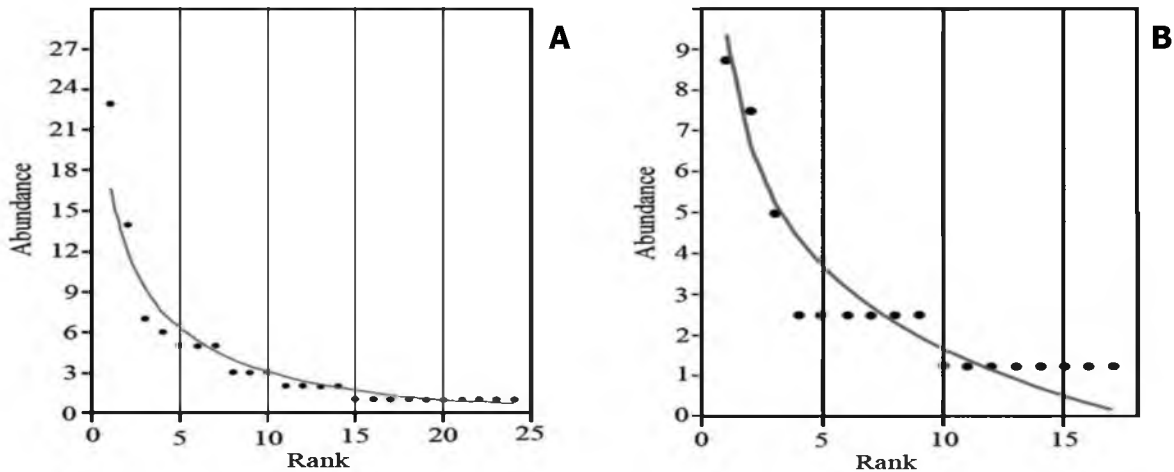


Figura 3.2.5: (A) Modelo de distribución de las abundancias Log-series para las especies identificadas en cáscaras y (B) Modelo de distribución de las abundancias Vara quebrada o Broken-stick en membranas de *Caiman latirostris*.

Se registraron para este sustrato una $S_{\text{total}} = 17$ sps., de las cuales 52.9% (9 especies de 17) fueron saprófitos, 29.4% (5 especies de 17) fueron patógenos, 11.8% (2 especies de 17) fueron micelios estériles y 5.9% (1 especie de 17) fueron levaduras (TABLA 3.2.1). La riqueza fue mayor en las muestras de membranas de S1 ($S = 7$), mientras que las muestras restantes tuvieron valores de riqueza de 1 sp. y 4 sp. La abundancia total fue de 37 UFCs para todas las membranas procesadas; la abundancia relativa porcentual para cada grupo econutricional fue de 59.4% (22 UFCs de 37) hongos saprófitos, 32.4% (12 UFCs de 37) hongos patógenos, 5.4% micelios estériles (que no se pudieron asignar a uno u otro grupo econutricional) y 2.7% (1 UFCs de 37) levaduras. Las especies

con los valores de abundancia más altos fueron *Cladosporium cladosporioides* (18.9%) y *Syncephalastrum racemosum* (16.2%), las especies con abundancias intermedias fueron 7 y sus valores relativos de abundancia estuvieron entre 5.4% y 10.8%. Las especies raras estuvieron representadas por el 47% del total listado para este sustrato y se aisló solo 1 UFC de cada una. La distribución de la abundancia de la comunidad en la membrana se ajustó a un modelo "Broken-stick" o vara quebrada ($p = 0.98$) (FIG 3.2.5.B)

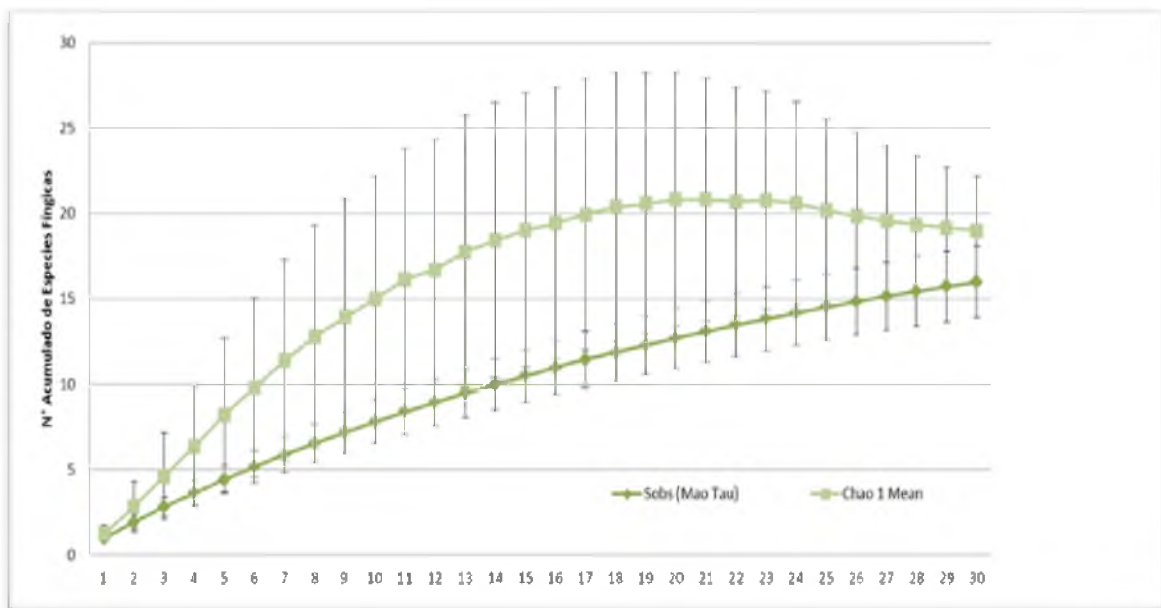


Figura 3.2.6: Curva de acumulación de Especies estimadas y Especies identificadas en membranas de *C. latirostris*. **Eje Y:** N° acumulado de especies (Riqueza acumulada de especies fúngicas); **Eje X:** Total de cajas de Petri sembradas para las 6 membranas de huevos procesados según el método de lavado de partículas.

3.2.5 DISCUSION

Distintos trabajos plantean que los hongos que crecen en el suelo y en material de nido contaminarían los huevos a medida que son puestos y/o cuando los huevos pasan por la cloaca contaminada (PHILLOT ET AL. 2006, PHILLOT ET AL. 2002, ELSHAFIE ET AL. 2007). Esto podría explicar los resultados obtenidos ya que

muchos de los hongos identificados en este trabajo son habitantes comunes del suelo, plantas y otro tipo de sustratos presentes en el hábitat natural de *Caiman latirostris*. En este sentido, considerando los resultados obtenidos para las muestras de cáscaras los hongos saprótrofos fueron más abundantes y esto podría explicarse en función a que estos hongos representan un estimado de 78 – 90% del total de biomasa descomponedora en pastizales (FRANKLAND 1982). Asimismo, estos hongos representaron el 52 – 62% tanto en las cáscaras como en las membranas. Estos resultados mantienen la relación aproximada 2:1, saprótrofos versus patógenos, la misma que se obtuvo en el capítulo 2 (sección 2.2) en el material de nido. Si los hongos adheridos a las cáscaras y/o membranas son adquiridos del ambiente, esta relación se mantendría y por consiguiente el origen de los hongos identificados es externo a la hembra.

Los valores de riqueza y abundancia de hongos fueron mayores en las cáscaras que en las membranas y esto podría ser consecuencia por un lado por la estructura misma de las cáscaras y por otro por su acción como barrera. La cáscara es color blanco, rugosa, tiene una membrana fibrosa interna, poros, cráteres y tapones de poros (durante las primeras semanas de incubación, constituidos por bacterias, hongos, restos de material de nido y remanentes de las secreciones del oviducto), por lo tanto por sus características habría una mayor de superficie disponible para el desarrollo de los hongos (GOODWIN Y MARION 1978, FERGUSON 1982, PAZ ET AL. 1995, KERN Y FERGUSON 1997). Por otro lado, la cáscara como barrera evita el contacto con la membrana de elementos externos al huevo (BERRANG ET AL. 1999). El modelo de distribución al cual se ajustaron los hongos identificados y cuantificados en las cáscaras, fue el de Log-series con dos especies dominantes: *Syncephalastrum racemosum* y *Rhizopus stolonifer*, un elevado número de especies raras y algunas con abundancia intermedia. Este modelo sugiere que la comunidad fúngica podría estar en un estado temprano de sucesión (MAGURRAN 1988) y/o puede ser una comunidad pequeña (MORENO 2001). Esta

distribución se basa en los mismos supuestos biológicos expuestos para las comunidades fúngicas de los nidos (Capítulo 2, sección 2.2).

Según KERN Y FERGUSON (1997) los huevos de alligators tienen tres tipos de poros desde pequeños ($3 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$) a medianos ($14 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$) y grandes ($26 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$) en una proporción 3:3:1 respectivamente y según las medidas de esos poros, al calcular la superficie que cubren, solo el 0.29% de un centímetro cuadrado de cáscara estaría cubierto por estos poros. Si asumimos esta misma distribución y proporción de poros para los huevos de yacaré, es posible que la cáscara sea una barrera mecánica debido a que es mayor la superficie de membrana cubierta por cáscara sin poros (según datos de KERN Y FERGUSON 1997, 99% de un centímetro cuadrado).

La mayoría de los hongos comunes en ambos sustratos tienen esporas redondas a ovales con $2.5 - 3 \mu\text{m}$ de diámetro promedio (DOMSCH ET AL. 1983); aunque especies como *Fusarium sp* y/o *Cochliobolus lunatus* tienen conidios de formas y tamaños variables (conidios que varían de $31 - 38 \mu\text{m}$ y $3 - 5 \mu\text{m}$) e igualmente pudieron atravesar la cáscara en pequeñas proporciones. A pesar de la relación "tamaño de los conidios" versus "tamaño de los poros" en las especies antes nombradas, es posible que hayan atravesado la cáscara por medio de las grietas que éstas presentan (FERGUSON 1982). Es conocido que la cáscara exhibe lesiones que dejan expuesta superficie de membrana (FERGUSON 1982, PAZ ET AL. 1995), los hongos podrían atravesar esas lesiones y de esa forma llegar a depositarse en las membranas. Además los tapones de los poros, en las cáscaras, pueden faltar lo que reduciría su capacidad como barrera o filtro. Como se mencionó, esos tapones de los poros suelen estar presentes en las primeras etapas de la incubación y van desapareciendo a medida que ésta avanza dejando los poros más expuestos lo que explicaría la mayor abundancia de hongos, en la segunda mitad del periodo de incubación, en la membrana del huevo S1.

Tendiendo en cuenta los resultados obtenidos, la mayoría de los hongos que se identificaron en las membranas serían consecuencia de la filtración de los conidios a través de los poros de la cáscara, los cuales en algunos casos se extienden y hacen contacto con la membrana (FERGUSON 1982). La distribución de las abundancias de hongos sobre las muestras de membrana se ajustó a un modelo de vara quebrada y se puede asumir que las especies identificadas colonizaron el sustrato al mismo tiempo por lo que, poseen las mismas habilidades competitivas (MORENO 2001) y hubo una distribución al azar de las abundancias de cada especie. Esto apoyaría la suposición que la "filtración" de las esporas desde la cáscara hacia la membrana sería aleatoria debido a que existen diversos tipos de tamaños de poros y lesiones en la cáscara que permiten el pasajes de estos hacia la membrana sin especificidad alguna. De la misma manera, los hongos identificados en la membrana no tendrían ventajas competitivas entre si ya que los resultados obtenidos muestran que ese sustrato fue colonizando al mismo tiempo.

Géneros y especies fúngicas:

Los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* fueron los más representados en este trabajo en ambos sustratos. Las especies aquí identificadas fueron destacadas en trabajos anteriores como patógenos de reptiles (JACOBSON ET AL. 2000, MITCHELL Y TULLY 2009). Las especies del género *Aspergillus* pueden crecer a diferentes temperaturas y sobre una amplia variedad de sustratos; estos hongos pueden producir aflatoxinas como metabolitos secundarios. Dos especies de este género fueron aisladas en las muestras de membrana, uno de ellos es *Aspergillus fumigatus* el cual también fue aislado de material vegetal parcialmente descompuesto del interior de nidos del cocodrilo americano (TANSEY 1973) y sobre huevos de criadero (PALACIOS Y SICK 2004). *Aspergillus niger*, también identificado en este trabajo, fue hallado en huevos de *Chelonias mydas* (ELSHAFIE ET AL. 2007) dándoles una tonalidad negra a los mismos. *Aspergillus flavus* es un hongo patógeno con distribución cosmopolita hallado en las muestras de cáscara de

Caiman latirostris y según DOMSCH ET AL. (1993) se encuentra distribuido fundamentalmente en zonas tropicales y subtropicales.

Las especies del género *Penicillium* están presentes en ambientes naturales en cantidades significativas (SAMARAJEWA 1991) y fueron identificadas en cáscara y membrana de *Caiman latirostris*. Algunas de estas especies son también capaces de producir metabolitos secundarios (micotoxinas) como patulina (*P. funiculosum*), citrinina (*P. turolense* y *P. verrucosum*), giberelinas (*P. funiculosum*) y ocratoxinas (*P. verrucosum*), todos estos metabolitos exhiben efectos fisiológicos en los hospedadores (PITT Y HOCKING 1997, FRISVAD ET AL. 2004).

Fusarium es un género ubicuo, saprótrofo cosmopolita, biotrofo – patógeno y un hongo endofítico (PIER ET AL. 1980). Varias especies de este género son importantes productores de micotoxinas como las fumonisinas. Trabajos previos han determinado que especies de este género atraviesan las membranas de los huevos de reptiles (HIBBERD Y HARROWER 1993, CABAÑES ET AL. 1997) y causa la pérdida de huevos en las nidadas reduciendo el éxito de eclosión (MOREIRA LOPES Y BARATA 2005, PHILLOT Y PARMENTER 2006). En los sustratos analizados aquí se identificó a *F. sacchari* el cual es conocido como patógeno de plantas pero del cual no existe registro como patógeno de reptiles (NIRENBERG 1976).

Se identificaron varias especies del género *Cladosporium* (en cáscaras y membranas, ver TABLA 3.2.1) ya que estos son hongos comunes con una distribución cosmopolita. *C. cladosporioides* fue hallado en huevos de *Chelonias mydas* y es conocido por provocar el oscurecimiento en distintos lugares de las cáscaras (ELSHAFIE ET AL. 2007).

También se identificaron a *Alternaria alternata* y *A. tenuissima* los cuales son hongos que generan esporas que se dispersan fácilmente por el aire, muy comunes, cosmopolitas y que pueden ser halladas en diferentes tipos de sustratos (LACEY 1989, MOSS 1991, SERDANI ET AL. 2002).

Syncephalastrum racemosum y *Rhizopus stolonifer* son hongos de la clase Zygomycetes filamentosos, comúnmente aislados de suelo y heces de animales, particularmente, en zonas tropicales y subtropicales. Además, son considerados contaminantes comunes, aunque algunas especies de *Rhizopus* pueden causar micosis en humanos (EUCKER ET AL. 2001) sin ser el agente primario de tales condiciones (JACOBSON ET AL. 2000, HUTCHZERMEYER 2003, MITCHEL Y TULLY 2009).

Los hongos unicelulares como las levaduras estuvieron representados por *Rhodotorula* sp. la cual fue más abundante en la cáscara (5.4%), y es eventualmente aislada como agente causal de micosis oportunistas en hospedadores vulnerables (GARCÍA-MARTOS ET AL. 2004). La presencia combinada de levaduras y bacterias sobre las cáscaras podría facilitar la penetración bacteriana y posterior infección, esto posiblemente, como consecuencia de la exposición de poros abiertos en las cáscaras por los cuales las bacterias pueden acceder al contenido del huevo. Este mecanismo fue descrito para huevos de aves (COOK ET AL. 2004).

Actualmente no se han publicado, trabajos científicos que consideren la presencia de microhongos y sus efectos en huevos de cocodrilos. Por lo tanto, el estudio aquí desarrollado representa la primera contribución para dilucidar las interacciones hongos – caimanes. A partir de este trabajo se pudo identificar, al menos preliminarmente, que tipo de hongos podrían encontrarse en la cáscara de huevos de *Caiman latirostris* y cuales serían los mecanismos más probables para su ingreso hacia la membrana. Definitivamente, el trabajo desarrollado constituye el primer paso fundamental para seguir profundizado en temas como: a) la identificación de potenciales agentes patógenos capaces de causar micosis en ambientes naturales; b) estudiar si los hongos pueden reducir el éxito de eclosión de los pichones y c) si estos hongos pueden afectar el desarrollo del embrión durante el proceso de incubación.

ANEXO



Capítulo 3.2

Tabla 3.2.1: Lista de especies de hongos registrados en **Cáscaras (CC)** y **Membranas (MB)** de huevos de *C. latirostris*.

Tipos Nutrición	Especies fúngicas	CC de <i>C. latirostris</i>						MB de <i>C. latirostris</i>							
		Monte		Embalsado		Sabana		N	Monte		Embalsado		Sabana		N
		1	1	2	3	1	2		1	1	2	3	1	2	
Biotrofos - Patógenos	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 1912	1				2	3								
	<i>Aspergillus flavus</i> Link 1809	2					2								
	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. 1863								1				1	2	
	<i>Aspergillus brasiliensis</i> Varga, Frisvad & Samson 2007												2	2	
	<i>Aspergillus sp.</i> P. Micheli ex Link 1809								2					2	
	<i>Cochliobolus lunatus</i> R.R. Nelson & F.A. Haasis 1964			2	5		7					4		4	
	<i>Fusarium sacchari</i> (E.J. Butler & Hafiz Khan) W. Gams 1971			1	4		5								
	<i>Fusarium sp.</i> Link 1809		2	2			6				1	1		2	
	<i>Fusarium sp2.</i> Link 1809				1		2								
	<i>Fusarium sp3.</i> Link 1809				1		1								
Saprótrofos	<i>Acremonium butyri</i> (J.F.H. Beyma) W. Gams 1971											1		1	
	<i>Sarocladium strictum</i> (W. Gams) Summerb.				1		1								
	<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire 1933							2	2						
	<i>Arthrographis sp.</i> G. Cochet ex Sigler & J.W. Carmich. 1976.			1										1	
	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries 1952	1				1	1	3		1	1		4	1	7

Tabla 3.2.1: Continuación

Saprótrofos	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link 1816		1			1		2	2	
	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz. 1882	1				1				
	<i>Eurotium herbariorum</i> (F.H. Wigg.) Link 1809						1		1	
	<i>Penicillium echinulatum</i> E. Dale 1923	1				1				
	<i>Penicillium funiculosum</i> Thom 1910		1			1				
	<i>Penicillium sp.</i> Link 1809	1				1				
	<i>Penicillium turolense</i> C. Ramírez & A.T. Martínez 1981				1	1		1	1	
	<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx 1901		3		2	5			2	2
	<i>Phialocephala fusca</i> W.B. Kendr. 1963								1	1
	<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.) Vuill. 1902			14		14				
	<i>Scopulariopsis acremonium</i> (Delacr.) Vuill. 1911							1		1
	<i>Syncephalastrum racemosum</i> Cohn ex J. Schröt. 1886	21	2			23	5	1		6
	<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai 1969			1		1				
Micelios	Micelio estéril dematiáceo				2	2			1	1
Estériles	Micelio hialino estéril	1	1	1		3		1		1
Levaduras	<i>Rodhotorula sp.</i> Harrison 1927				5	5		1		1
<i>N total (UFC)</i>							92			
<i>S (Riqueza de especies)</i>							24			



Capítulo 4

Efecto de esporas de
Aspergillus fumigatus
y
Fusarium oxysporum
en la incubación de
huevos de
Caiman latirostris

4.1 ANTECEDENTES

La recolección de huevos silvestres para su incubación artificial (Ranching) ya sea con propósitos comerciales o para conservación, se realiza en diferentes especies de cocodrilos (HUTTON Y WEBB 2002, LARRIERA E IMHOF 2006). Muchos programas de conservación consideran la translocación de nidos de ambientes naturales a criaderos como una técnica útil para el manejo de especies en peligro o amenazadas. Esta técnica combinada con la devolución de individuos a la naturaleza es considerada la opción más segura para la conservación de una especie, ya que minimizaría el impacto sobre las poblaciones silvestres (IUCN-SSC CROCODILE SPECIALIST GROUP, BARROS ET AL. 2010).

Esta práctica evita la pérdida de huevos ya sea por predación (GOODWIN Y MARION 1978, LARRIERA ET AL. 2008), inundación de los nidos (FOGARTY 1974, LARRIERA E IMHOF 2006), desecación (GRIGG Y BEARD 1985, MAZZOTTI ET AL. 1988, SINGH ET AL. 2010) y otros factores que afectan el desarrollo o evolución de la nidada. Entre los diversos factores que disminuyen el éxito de eclosión de los huevos además se debe considerar la contaminación por medio de hongos y/o bacterias (FERGUSON 1982, PALACIOS Y SICK 2004, PEUCKER ET AL. 2005). Esto último es evidente también en las nidadas incubadas bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. Existen antecedentes en proyectos de conservación de tortugas, donde el uso repetido de los mismos sustratos de incubación durante varias temporadas resulta perjudicial para los embriones, debido a la acumulación de patógenos y/o a la alteración de las condiciones físicas y químicas de los nidos (PATINO MARTÍNEZ ET AL. 2012). Por otro lado, una densidad alta de nidos en los criaderos permitiría la radiación de microorganismos entre los nidos (ÖZDEMİR Y TÜRKOZAN 2006).

Los criaderos de cocodrilos acumulan gran cantidad de nidos en las incubadoras, ese ambiente con una temperatura constante que oscila entre los 30°C a 33°C y alta humedad relativa, propician las condiciones óptimas para el

desarrollo de hongos, además de otros microorganismos. La incubación de los huevos de yacaré permitiría la extensión progresiva de las hifas desde huevos no viables, que funcionan como fuente de nutrientes para hongos comunes de suelo, hacia los adyacentes como se describe en MOREIRA LOPES Y BARATA (2005). PHILLOT Y PARMENTER (2001A) demostraron que en situaciones extremas la nidada completa fue cubierta por hifas fúngicas y esto redujo la eclosión posterior de pichones.

Hasta el momento, no existen estudios que analicen si los hongos con potencial patógeno, descritos en los capítulos anteriores, tendrían un efecto negativo sobre las condiciones de incubación y/o sanidad de los huevos de *C. latirostris* incubados en condiciones naturales o artificiales (FIG 4.1). No obstante, existen antecedentes en el estudio de *Aspergillus fumigatus* como patógeno con efectos letales en huevos, embriones y neonatos de *Caiman crocodilus fuscus* (PALACIOS Y SICK 2004). Además, aunque las determinaciones surgieron de necropsias y/o muestras de piel, este hongo fue documentado en: muestras de pulmón de adultos cautivos de *Alligator mississippiensis* (JASMIN ET AL. 1968) y lesiones sobre el cuerpo de neonatos de *Crocodylus porosus* (BUENVIAJE ET AL. 1994). Lesiones similares a estas últimas se asociaron a una especie sin determinar del género *Fusarium* (BUENVIAJE ET AL. 1998).

Para el caso de *Fusarium oxysporum*, la mayoría de los antecedentes provienen de micosis en quelonios recién nacidos o jóvenes (JACOBSON ET AL. 2000, PHILLOT Y PARMENTER 2001B, ELSHAFIE ET AL. 2007, GÜÇLÜ ET AL. 2010, SARMIENTO RAMÍREZ ET AL. 2010, PATINO MARTINEZ ET AL. 2012). También, se identificó esta especie como responsable de lesiones en las membranas de huevos infértiles previamente desinfectados de *C. porosus* (SCHUMACHER Y CARDEILHAC 1990). Debido a que estas especies fueron halladas tanto en material de nido (*F. oxysporum*) como en membranas (*A. fumigatus*) de huevos de *Caiman latirostris*, resultaría interesante evaluar su incidencia como potencial patógeno para esta especie. Por lo expuesto, se propone desarrollar el siguiente objetivo.



Figura 4.1: *Fusarium oxysporum* sobre uno de los huevos inoculados, el desarrollo del micelio se observó posteriormente a la aparición de una grieta por la cual escapaba contenido del interior del huevo.

4.2 OBJETIVO

- Evaluar si la inoculación de esporas de *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum* afecta el éxito de eclosión, la sanidad de los huevos durante la incubación y el tamaño de los neonatos de *Caiman latirostris* al momento de la eclosión.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de Muestreo: durante la temporada reproductiva 2012 se cosecharon 3 nidos cerca del día de su postura. Los nidos provenían del ambiente monte (n = 2; 32 huevos y 12 huevos) (FIG 4.2) y embalsado (n = 1; 24 huevos) del sitio de muestreo campo "Cacique".

Incubación: las incubadoras consistieron en bateas plásticas de aproximadamente 100 litros (79 x 43 x 30 cm) con tapas de poliuretano expandido

(telgopor). Dichos recipientes se llenaron con 10 cm de agua calefaccionada por un calentador eléctrico de acuario, y la temperatura se mantuvo constante a 31°C mediante un termostato. Sobre el agua se extendió un plástico, donde posteriormente se ubicarían los recipientes conteniendo los huevos cosechados. Para conservar la humedad se hidrataba el ambiente interior de las incubadoras regularmente con agua estéril en spray, y la temperatura fue registrada con almacenadores de datos: HOB0 Data Logger (ONSET COMPUTER CORPORATION, POCASSET, MA, USA), que se leyeron al menos una vez por día, con el propósito de verificar que ésta no se aleje de la estipulada. Las tareas de puesta a punto de las incubadoras se realizaron 30 días antes, controlando la temperatura y regulando los termostatos hasta llegar a la estabilidad deseada. En todo momento se mantuvieron las condiciones de esterilidad para minimizar el ingreso de contaminantes externos.

Dentro de las incubadoras se ubicaron 6 recipientes (dimensiones 25 x 40 x 10 cm), uno sobre otro, que contenían los huevos. Cada recipiente constaba de 5 huevos provenientes de los nidos cosechados para este ensayo, los mismos fueron separados equitativamente en cada recipiente para evitar que el efecto nido sesgue el resultado del experimento (FIG 4.3, A - C). Cada recipiente se esterilizó limpiando la superficie interna con alcohol 70%. Los huevos se ubicaron sobre una capa de vermiculita esterilizada en autoclave (1 atm, 220 °C, 20 minutos) la que se hidrató con agua destilada estéril.

Antes de ubicar los huevos en los recipientes, se realizó un proceso de desinfección de la superficie de los huevos y eliminación de restos orgánicos que se adhirieron en el nido. En un primer paso se limpió la superficie de los huevos con alcohol al 70% y rápidamente se realizó un primer enjuague con agua destilada estéril y posteriormente un segundo para eliminar los excedentes de alcohol en la cáscara de los huevos. Entre el primer enjuague y el segundo se

cepilló la superficie para asegurar la remoción casi completa de los restos orgánicos adheridos a las cáscaras.



Figura 4.2: Nido de Monte (Isleta de Bosque RI) y esquema de los huevos cosechados del nido.

Preparación de las suspensiones de conidios de *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum*: las cepas que se utilizaron para la preparación de la suspensión de conidios, se sembraron en caja de Petri con medio nutritivo (Agar malta) 15 días antes de comenzar el experimento. Esto permite un buen desarrollo de las colonias, en condiciones naturales de temperatura y fotoperiodo, además de una buena esporulación de las mismas. Una vez que las colonias esporularon, se agregó agua destilada estéril a cada caja para lavar la superficie de las colonias (donde se encuentran los conidios). Posteriormente al lavado y remoción de las esporas se volcó esa solución madre en 10 ml de Tween 0.001%. Ese primer lavado con Tween se coloca unos instantes en vortex para contribuir con la separación de los conidios por acción del detergente. Con esta

"EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Aspergillus fumigatus* Y *Fusarium oxysporum* EN LA INCUBACIÓN DE HUEVOS DE *Caiman latirostris*"

solución madre se realizó la dilución seriada (FIG 4.4) para el conteo de conidios en Cámara de Neubauer para determinar la concentración de las mismas (CAÑEDO Y AMES 2004). Este procedimiento se realizó para las dos especies consideradas para estos ensayos (*Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum*).

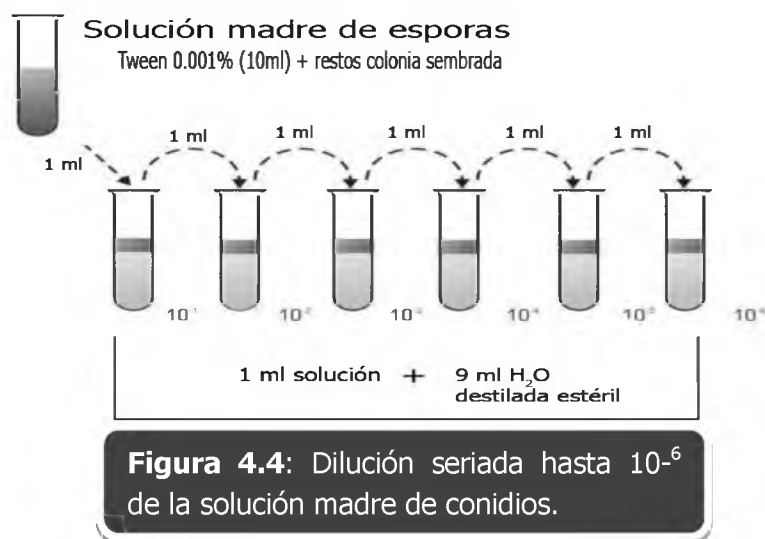


Figura. 4.3: Huevos de los diferentes tratamientos en cada recipiente (con vermiculita estéril) dentro de las incubadoras. Posteriormente cada recipiente se tapó para evitar la contaminación entre los mismos.

Se determinó el número de conidios por ml y el número total de conidios utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Conidios / ml} = \# \text{ de conidios contadas} \times 25.000 \times \text{factor de dilución}$$

De este conteo se separaron dos suspensiones de diferentes concentraciones para cada especie fúngica, una de mayor concentración y otra de menor concentración de conidios/ml. Para *A. fumigatus* se obtuvo una suspensión de $2,7 \times 10^7$ conidios/ml y $7,75 \times 10^{11}$ conidios/ml. Las suspensiones para *F. oxysporum* fueron de $4,12 \times 10^7$ conidios/ml y $9,5 \times 10^{11}$ conidios/ml.



Posteriormente sobre los huevos en cada recipiente, se roció con un spray (de 35 cc de capacidad) 300 μ l de cada suspensión, de un lado y del otro de los mismos haciendo un total de 600 μ l (SCORSETTI ET AL. 2008) (FIG 4.5 A). Los huevos se reubicaron en los recipientes y estos se taparon y se colocaron en las incubadoras como se indica en la FIG 4.5 (B – C). Durante las primeras etapas de desarrollo de los embriones los recipientes se controlaron día por medio, para hidratar la vermiculita y mantener la humedad durante la incubación. Además se inspeccionó cada huevo por medio de ovoscopías para separar y/o controlar los huevos que mostraran alguna evidencia de desarrollo defectuoso del embrión (banda con desarrollo detenido, banda entrecortada, etc.) o huevos que no estaban embrionados. De esta forma se aislaron esos huevos para evitar que contaminen el resto de los huevos en cada recipiente. A partir del día que la banda opaca cubrió la totalidad del huevo, lo que significa que los embriones están más desarrollados y por lo tanto aumenta el consumo de oxígeno por parte de los mismos (IUNGMAN 2012) los recipientes se aireaban como mínimo una vez por día, y de esta forma no disminuía la cantidad de oxígeno disponible para los embriones en desarrollo.

Manejo de los pichones: una vez que los pichones eclosionaron fueron medidos con calibre (± 0.1 mm) y pesados en balanza digital (± 0.5 g). Se tomó la

"EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Aspergillus fumigatus* Y *Fusarium oxysporum* EN LA INCUBACIÓN DE HUEVOS DE *Caiman latirostris*"

medida de LHC (Largo Hocico Cloaca) que es la utilizada comúnmente con este tipo de animales. Posteriormente quedaron a disposición del criadero para ser liberados en las piletas de cría.

Análisis de los datos:

Las variables largo hocico-cloaca (LHC, mm) y peso de los pichones (P, g) al nacer se analizaron por medio del test de Kruskal Wallis (análisis de la varianza no paramétrica) ya que los residuos de dichas variables no cumplieron con los supuestos de normalidad. Los factores de clasificación fueron los tratamientos (control, concentración 1 y concentración 2) y nidos. El test se realizó para cada una de las especies utilizada para el ensayo (AF: *Aspergillus fumigatus* y FO: *Fusarium oxysporum*) (INFOSTAT VERSIÓN 2008). Para los datos del ensayo con FO se eliminó el nido lila como consecuencia del faltante de datos para una de las concentraciones inoculadas. La sanidad de los huevos es una evaluación subjetiva del estado exterior de la cáscara durante la incubación hasta la eclosión.

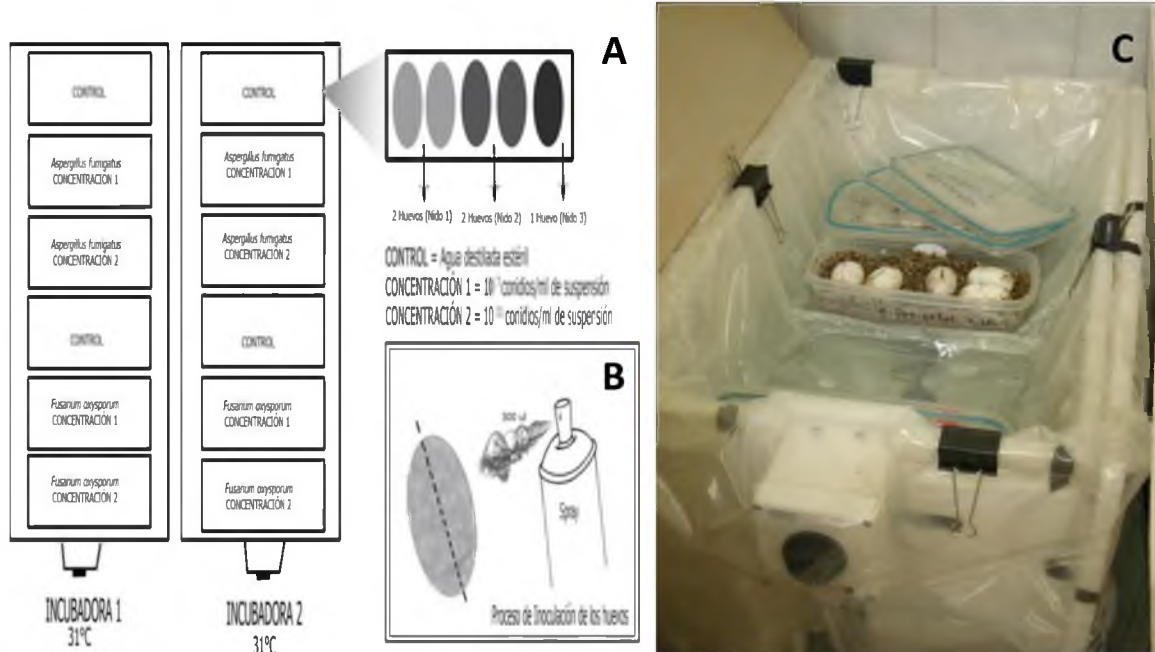


Figura 4.5: A) - Diseño experimental. B) – Metodología de inoculación de las suspensiones sobre los huevos. C) - Incubadoras utilizadas en este experimento.

4.4 RESULTADOS

Del total de huevos incubados ($n = 60$) eclosionaron 51 pichones (85%). Del ensayo con *Aspergillus fumigatus*, el porcentaje de eclosión fue de: Control = 100%, tratamiento C1 (2.7×10^7 conidios/ml) = 90% y tratamiento C2 (7.75×10^{11} conidios/ml) = 80%. Considerando el éxito de eclosión en cada incubadora, para este hongo, en la incubadora 1 eclosionaron: 5 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento control, 5 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento C1 y 3 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento C2. Los resultados para la incubadora 2 fueron: 5 pichones nacidos (de 5 huevos incubados) en el tratamiento control, 4 pichones nacidos (de 5 huevos incubados) en el tratamiento C1 y 5 pichones nacidos (de 5 huevos incubados) en el tratamiento C2.

Del ensayo con *Fusarium oxysporum*, el porcentaje de eclosión fue de: 60% en el tratamiento Control, en el tratamiento C1 (4.12×10^7 conidios/ml) el 100% y en el tratamiento C2 (9.5×10^{11} conidios/ml) el 80%. Del total de huevos incubados ($n = 30$), eclosionaron 24 pichones. Teniendo en cuenta cada incubadora, de la incubadora 1, nacieron: 4 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento control, 5 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento C1 y 4 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento C2. En la incubadora 2, los pichones nacidos fueron: 2 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento control, 5 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento C1 y 4 pichones (de 5 huevos incubados) para el tratamiento C2. Observando los resultados de huevos eclosionados por cada nido y por cada incubadora, no se aprecia ninguna tendencia conforme aumenta la concentración de conidios inoculada para cada tratamiento (FIG 4.4).

Análisis de la Varianza sobre el Peso (g) y el LCH (mm):

"EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Aspergillus fumigatus* Y *Fusarium oxysporum* EN LA INCUBACIÓN DE HUEVOS DE *Caiman latirostris*"

El peso varió entre los grupos (*Aspergillus fumigatus* (gl: 8, H: 21.85, $p < 0.05$); *Fusarium oxysporum* (gl: 5, H: 14.1, $p < 0.05$); de las comparaciones de los tratamientos para las dos especies de hongos se observó que no hay efecto de los hongos y la diferencia en peso se debe a los nidos, ya que dentro de cada nido el tratamiento produjo pichones de peso similar (TABLA 4.1 y 4.2). La presencia de esporas de *A. fumigatus* no influyó en el LHC de los neonatos (gl: 8, H: 5.14, $p = 0.74$) y lo mismo resultó para los tratamientos con *F. oxysporum* (gl: 5, H: 3.78, $p = 0.58$). Ver tablas con todas las medidas de LCH y peso en Anexo de este capítulo (TABLA 4.3).

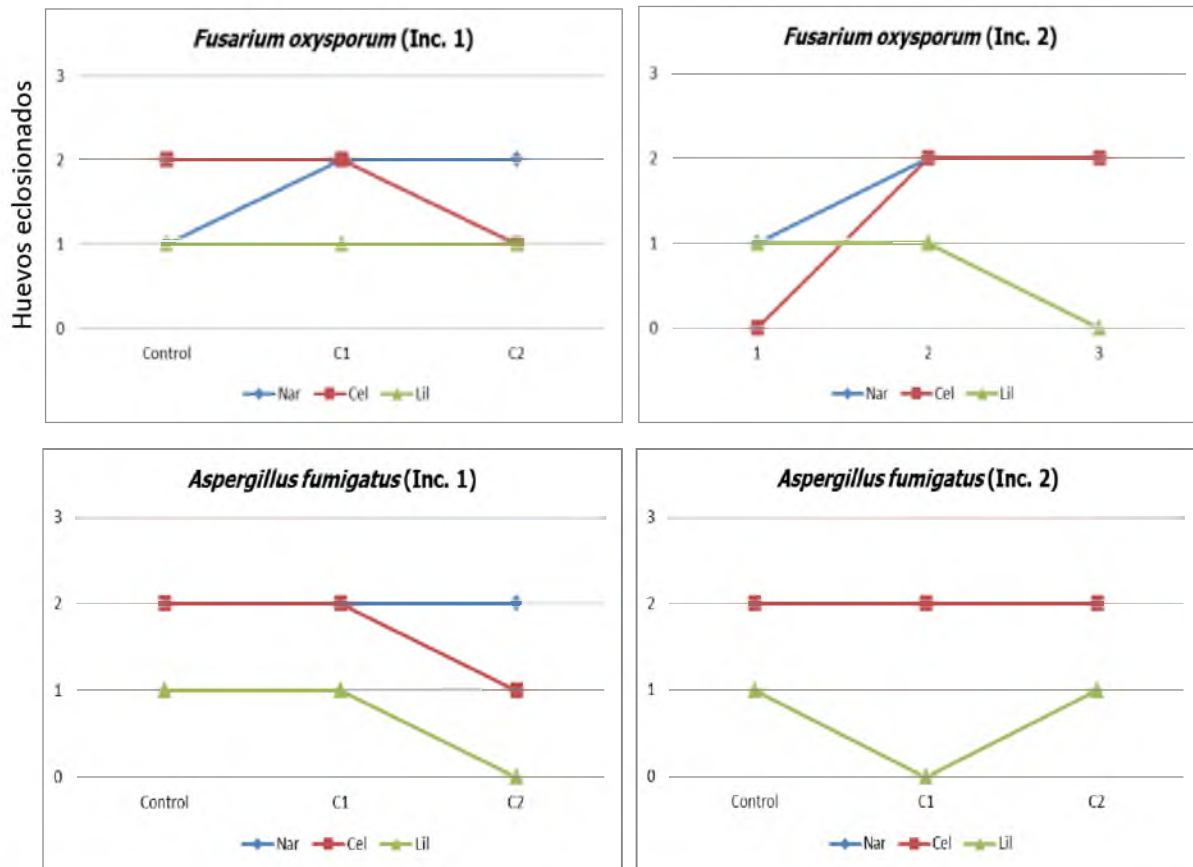


Figura 4.4: Total de huevos eclosionados en los diferentes tratamientos por cada nido en ambas incubadoras, según el hongo inoculado. **Inc. 1:** Incubadora 1 e **Inc. 2:** Incubadora 2.

"EFECTO DE LAS ESPORAS DE *Aspergillus fumigatus* Y *Fusarium oxysporum* EN LA INCUBACIÓN DE HUEVOS DE *Caiman latirostris*"

Tabla 4.1: Resultados análisis de Kruskal Wallis para el peso de los neonatos. Experimento con *Aspergillus fumigatus*. Medias con una letra común son similares ($p > 0.05$).

Nido	Tratamiento	N	Medias	D.E	Medianas	Rangos
Lila	C2	1	40	0	40	2 A
Lila	Control	2	39.75	1.77	39.75	3 A
Lila	C1	1	41	0	41	5 A B
Celeste	C2	3	41.83	1.89	41	6.33 A B
Celeste	Control	4	43.63	0.75	43.5	10.25 A B
Celeste	C1	4	44.25	1.32	44.5	11.75 A B
Naranja	Control	4	50.88	4.07	51	19.63 B C
Naranja	C2	3	51.83	3.51	51.5	20.17 B C
Naranja	C1	4	54.75	1.55	54.25	23 C

Tabla 4.2: Resultados análisis de Kruskal Wallis para el peso de los neonatos. Experimento con *Fusarium oxysporum*. Medias con una letra común son similares ($p > 0.05$).

Nido	Tratamiento	N	Medias	D.E	Medianas	Rangos
Celeste	Control	2	32.25	0.35	32.25	1.5 A
Celeste	C1	4	41.63	2.56	41.5	5.88 A
Celeste	C2	3	42.67	0.29	42.5	6.17 A B
Naranja	Control	1	51.5	0	51.5	13 A B C
Naranja	C2	4	52.13	2.78	52	13.38 B C
Naranja	C1	4	53.63	3.12	54.25	14.88 C

4.5 DISCUSIÓN

La inoculación de esporas de hongos a diferentes concentraciones sobre los huevos de *Caiman latirostris* no afectó su éxito de eclosión. En el caso de los huevos inoculados con *Aspergillus fumigatus* se observó que el éxito de eclosión varió entre 80% a 100%. Los huevos de *C. latirostris* inoculados con *Fusarium oxysporum* tuvieron un éxito de eclosión que varió entre el 50% y 100%. No

obstante, los porcentajes obtenidos tanto para *A. fumigatus* como para *F. oxysporum* se encuentran dentro del rango de éxito de eclosión esperado; ya que el 70% de los nidos incubados artificialmente, en condiciones controladas de humedad y temperatura, tienen un éxito de eclosión del 75% al 100% (LARRIERA E IMHOF 2006). Si se toman los porcentajes anteriores como parámetros normales, los huevos de los tratamientos control de esta experiencia (éxito de eclosión entre 50% (*F. oxysporum*) y el 100% (*A. fumigatus*)) se comportaron dentro del rango de normalidad calculado y esperado para esta especie.

Varias investigaciones realizadas con especies del género *Fusarium* han indicado el rol de estos hongos como posible razón del declinamiento de poblaciones de tortugas marinas (PHILLOT Y PARMENTER 2001B, ABELLA ET AL. 2008). Para el caso particular de *Fusarium oxysporum*, existen antecedentes que describen que la incubación de huevos de *Dermochelys coriacea* con restos de cáscaras contaminadas con este hongo y con *F. solani* tuvieron éxitos de eclosión similares (PATINO MARTÍNEZ ET AL. 2012). Además estos autores no hallaron efecto sobre el desarrollo embrionario en los huevos utilizados en sus experimentos. A su vez en *Caretta caretta* se ha demostrado el rol patógeno de *Fusarium solani* con índices de mortalidad de aproximadamente el 83% (SARMIENTO RAMÍREZ ET AL. 2010).

En relación a la sanidad de los huevos, PHILLOT Y PARMENTER (2001A) mencionan que los huevos infértiles, no desarrollados o en proceso de descomposición podrían permitir el ingreso y desarrollo de hongos que utilizan a estos huevos como sustrato. De esta forma estos huevos serían un foco de infección y permitirían la radiación de los hongos hacia los adyacentes provocando otras pérdidas. Los huevos de *Caiman latirostris* utilizados en estos ensayos no mostraron evidencias de desarrollo miceliar sobre la superficie de las cáscaras y el aspecto general de los huevos durante la incubación fue normal, a excepción de un huevo en proceso de descomposición de uno de los tratamientos con *Fusarium oxysporum*. La cáscara de este último presentaba grietas permitiendo que el

contenido del huevo saliera hacia la superficie, lo que sirvió como sustrato orgánico para el desarrollo del hongo (FIG 4.1) observable en un término no mayor a 4 días.

Más allá del rol patógeno de los hongos aquí utilizados, la sola presencia de esporas de los mismos no necesariamente conduce a la pérdida de huevos durante el período de incubación. SARMIENTO RAMÍREZ ET AL. (2010) destacan que la sola presencia de *Fusarium solani* en huevos de *Caretta caretta* no conduce al desarrollo de una enfermedad en los mismos. Coincidentemente con lo que ocurre con distintas especies de tortugas, los huevos de yacaré overo pasan todo el tiempo cubiertos con material de nido durante el desarrollo embrionario en condiciones de alta humedad y temperatura, condiciones que favorecerían el desarrollo de hongos de suelo entre ellos distintas especies de *Fusarium*. Sin embargo estas condiciones podrían no ser los únicos factores que determinen el desarrollo de alguna enfermedad sobre los huevos, la presencia de huevos asintomáticos en las nidadas en ambientes naturales apoya la teoría de que otros factores además de las condiciones microambientales del nido son necesarias para el desarrollo del hongo como patógeno para estos reptiles (SARMIENTO RAMÍREZ ET AL. 2010). Los resultados de los experimentos con huevos de yacaré aportan evidencias a esa hipótesis, ya que más allá de la presencia de esporas de los hongos sobre la superficie de los huevos inoculados, no se observó desarrollo de los hongos sobre las cáscaras, efectos negativos significativos sobre el éxito de eclosión y/o algún efecto sobre la sanidad de los huevos entre los tratamientos.

En cuanto al tamaño y peso de los pichones post-eclosión no se observó ninguna diferencia entre los tratamientos (tanto para AF y FO). No obstante, la diferencia obtenida para el peso (en ambos experimentos) se interpreta como inherente a los nidos utilizados, ya que en líneas generales el nido naranja fue más pesado que el nido celeste y este último tuvo valores de peso más elevados que el nido lila. Contrariamente a lo obtenido por PATINO MARTÍNEZ ET AL. (2012) donde pichones de *Dermochelys coriacea* resultaron más livianos y pequeños que los

individuos del tratamiento control, aunque en este caso los huevos de cada tratamiento fueron contaminados con restos de cáscaras con desarrollo micelial de *F. oxysporum*. Estos autores atribuyen esa diferencia a la resiliencia inmunológica de los embriones en desarrollo que previene el crecimiento del hongo y esto quizás reduciría los índices de mortalidad con un costo elevado para el embrión afectando su desarrollo.

En resumen, los resultados obtenidos no muestran que los hongos inoculados causen efectos negativos en cuanto al éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos, a no ser que el hongo pueda desarrollar micelio sobre los huevos como se ha observado en los trabajos de PHILLOT Y PARMENTER (2001A), MOREIRA LOPES Y BARATA (2005), PATINO MARTÍNEZ ET AL. (2012), SARMIENTO RAMÍREZ ET AL. (2010). En los casos antes mencionados se destaca la responsabilidad de algunos hongos patógenos como causantes del declinamiento de nidadas de anfibios, tortugas y lagartos. De los resultados obtenidos se concluye que la sola presencia de esporas no tendría efecto sobre las variables analizadas y del hecho fortuito de desarrollo de micelio en el huevo en descomposición que fue inoculado con *F. oxysporum* se infiere que las condiciones internas de los nidos no son suficientes para el desarrollo del hongo. No obstante, teniendo en cuenta el carácter preliminar de los ensayos realizados, se considera necesario aumentar el número de nidos, probar diferentes metodologías de inoculación y aumentar las repeticiones de este tipo de experimentos a fin de concluir de manera más ajustada cual sería la tendencia para *Caiman latirostris*.

ANEXO



Capítulo 4

Tabla 4.3: Medidas de largo hocico-cloaca (LHC) y peso de todos los individuos nacidos de los diferentes tratamientos.

Hongos	Nido	Tratamiento	Peso (g)	LHC (mm)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Naranja	Control	49.5	107.1
			46	99.9
			55.5	110.05
			52.5	99.81
		C1	54.5	96.2
			57	115.35
			54	102.72
			53.5	98.42
		C2	55.5	102.66
			48.5	105.84
			51.5	103.26
	Celeste	Control	44.5	108.26
			44	108.03
			43	107.03
			43	106.1
		C1	42.5	104.9
			44	102.05
			45	110.56
			45.5	110.7
		C2	40.5	103.95
			44	109.85
			41	102.54
Lila	Control	38.5	96.7	
		41	106.28	
	C1	42	107.5	
		C2	40	103.8

Hongos	Nidos	Tratamientos	Peso (g)	LHC (mm)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Naranja	Control	51.5	105.17
			55.5	109.09
		C1	53	102.44
			49.5	103.42
			56.5	108.94
			54	107.88
		C2	55	107.74
			50	97.69
			49.5	101.45
			Control	32.5
	32			105.44
	Celeste		C1	43
		39		104.42
		44.5		105.68
		40		104.72
		C2	43	106.55
			42.5	109.53
			42.5	107.35
			Lila	Control
	42	103.4		
C1	42.5	109.7		
	46.5	109.9		



CONCLUSIONES

PROYECCIÓN A
FUTURO

BIBLIOGRAFÍA

5. CONCLUSIONES

Las hipótesis planteadas en esta tesis doctoral fueron las siguientes:

- **Hipótesis 1:**

La composición de la microbiota presente en los nidos de *Caiman latirostris* varía según el hábitat de nidificación (monte, sabana o embalsado).


- **Hipótesis 2:**


La presencia de esporas de hongos patógenos como *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum* en los nidos afecta el éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos de *Caiman latirostris*.


- **Conclusiones de cada Capítulo**

Capítulo 1:

“Composición florística de los ambientes de nidificación de *Caiman latirostris*”

 La riqueza de especies es mayor en las unidades de monte respecto a las unidades de sabana y embalsado.

 El monte de la Reserva de Uso Múltiple (RUM) “El Estero” corresponde a un Espinillar de la región IV alternando con praderas de la región III, la sabana de este mismo sitio correspondería a las praderas descritas para la región III.

 El monte de campo “Cacique” corresponde por su composición florística a isletas de bosques de la región I y la sabana es semejante a las abras de la región II alternando con praderas de la región III.

El monte de Los Saladillos es un Espinillar típico de la región III y sus sabanas son similares a las sabanas de *Elionorus* de la región I.

El ambiente de nidificación de embalsado posee las mismas características en todos los sitios muestreados, por lo tanto se puede seguir identificando a ese sitio de nidificación con esa denominación.

Capítulo 2:

“Diversidad Micobiótica de los nidos de *Caiman latirostris*”

El 75% de los hongos identificados son anamorfos de Ascomycota. Dentro de las especies con antecedentes como patógenos, en reptiles, se identificaron a: *Fusarium oxysporum*, *Purpureocillium lilacinum* (= *Paecilomyces lilacinus* Thom 1910), *Aspergillus brasiliensis* (= *Aspergillus niger* Tiegh 1867) y *Cladosporium cladosporioides*.

Se observa una tendencia de agrupamiento de los nidos según los años de muestreo, en función a la similitud de sus ensamblajes fúngicos.

La heterogeneidad ambiental influye, de manera clara, sobre la composición de los ensamblajes fúngicos de cada nido en cada ambiente y esta variación temporal podría ser consecuencia de cambios en la intensidad de varios factores climáticos durante los años de muestreo.

El agrupamiento de los nidos según el ambiente de nidificación es útil como evidencia porque demuestra que la diversidad taxonómica y la variedad estructural de los taxones de plantas que constituyen dichos hábitats influyen sobre la diversidad microfúngica de cada ambiente.

Si bien el tipo y cantidad de nidos fue variable entre temporadas, los resultados obtenidos demuestran que las especies fúngicas varían según el ambiente considerado. Por lo tanto se acepta la hipótesis planteada en donde se menciona que: la composición de la micobiota

presente en los nidos de *Caiman latirostris* varía según el hábitat de nidificación (monte, sabana o embalsado).

Se amplió la distribución geográfica de algunas especies como: *Halenospora varia*, *Epulorhiza* anamorfo *Tulasnella calospora*, *Clathrosphaerina zalewskii* y se reconoció la presencia de hongos patógenos con un documentado efecto negativo en otros reptiles.

Capítulo 3:

“Micobiota cloacal de hembras de *Caiman latirostris*”

Los resultados obtenidos muestran que los hongos reportados (ver tabla Cap. 3.1) no son hospedadores específicos para cocodrilos y por esta razón pueden ser aislados en un amplio rango de animales con o sin evidencias físicas de micosis. Estos actuarían como transportadores facultativos de los propágulos.

El reporte de aislamientos fúngicos de la misma especie en distintas hembras sugiere que los animales podrían actuar como transportadores facultativos de hongos en sus cloacas.

No se halló relación entre la cantidad y tipo de esporas de hongo y el índice de masa corporal (IMC) de las hembras de *Caiman latirostris*. Los hongos de origen externo serían producto de la adquisición como propágulos en reposo de sedimentos aéreos, superficies con las que está en contacto, o material ingerido por los animales.

“Micobiota en cáscara y membrana de huevos de *Caiman latirostris*”

Los valores de riqueza y abundancia de hongos fueron mayores en las cáscaras que en las membranas y esto podría ser consecuencia de la acción de las cáscaras como barrera mecánica.

Los hongos que se identificaron en las cáscaras y en las membranas atravesarían hacia esta última por filtración de los conidios a través de los poros y lesiones de la cáscara.

El modelo de distribución al cual se ajustaron los hongos identificados y cuantificados en la cáscara, fue el de Log-series. Este modelo, de distribución de abundancia, sugiere que la comunidad fúngica podría estar en un estado temprano de sucesión y/o puede ser una comunidad pequeña.

La distribución de las abundancias de hongos sobre las muestras de membrana se ajustó a un modelo vara quebrada. Las especies identificadas colonizarían el sustrato al mismo tiempo y no tendrían ventajas competitivas entre si.

Se destaca la presencia de *Aspergillus fumigatus* (especie con antecedente patógeno en cocodrilos) en algunas de las muestras de membranas procesadas.

Capítulo 4:

"Efecto de *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum* en la incubación de huevos de *Caiman latirostris*"

Los porcentajes del éxito de eclosión de huevos de *Caiman latirostris* calculados para los diferentes tratamientos de inoculación con *Aspergillus fumigatus* (AF) y *Fusarium oxysporum* (FO) se encuentran dentro del rango de éxito de eclosión esperado (75% al 80%) para las nidadas incubadas artificialmente con condiciones controladas de humedad y temperatura.

Respecto a la sanidad de los huevos, de *Caiman latirostris*, no mostraron evidencias de desarrollo micelar sobre la superficie de las cáscaras y el aspecto general de los huevos durante la incubación fue normal.

La sola presencia de esporas de hongos *patógenos* no necesariamente conduce a la pérdida de huevos durante el período de incubación. Las condiciones microambientales de la cámara del nido podrían no ser los únicos factores que determinen el desarrollo de alguna enfermedad sobre los huevos.

En cuanto al tamaño y peso de los neonatos post-eclosión no se observó diferencia entre los tratamientos (tanto para AF y FO). No obstante, la diferencia significativa obtenida para el peso (en ambos experimentos) es una característica propia de cada nido.

Si bien estos experimentos son preliminares, teniendo en cuenta los resultados obtenidos se refuta la hipótesis planteada en donde se menciona que: la presencia de hongos patógenos como *Aspergillus fumigatus* y *Fusarium oxysporum* en los nidos afecta el éxito de eclosión, sanidad de los huevos y tamaño de los neonatos de *Caiman latirostris*.

En general:

Se determinaron en los nidos, en la cloaca, en las cáscaras y en las membranas de huevos de *C. latirostris* 113 especies de hongos, de las cuales 36 especies (31.8%) son comunes a todos los sustratos analizados. La distribución de las especies comunes fue variable entre los diferentes sustratos analizados (Capítulo 1 y 2):

Del total de especies identificadas:

- Cuatro de ellas fueron exclusivas de las muestras de cáscara (*Fusarium sacchari* y *Penicillium funiculosum*) y membrana (*Scopulariopsis acremonium* y *Eurotium herbariorum*) de huevos colectados en el embalsado.
- Una especie fue exclusiva de las muestras de cáscara (*Alternaria tenuissima*) de huevos colectados en el ambiente de nidificación sabana.

- Tres especies fueron exclusivas de las muestras de cáscara (*Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum* y *Penicillium echinulatum*) de los huevos colectados en el ambiente de nidificación monte y una de las membranas (*Aspergillus* sp.) de esos huevos.
- Cuatro especies fueron exclusivas de las muestras de cloaca de hembras de *C. latirostris* (*Zigosporium echinosporum*, *Scopulariopsis chartarum*, *Cirrenalia donnae* y *Acremonium fusidioides*).
- De los resultados de los hongos identificados en las cloacas, cáscaras y membranas de huevos se concluye que no todos los hongos de cloaca están presentes en los huevos. Asimismo, no todos los hongos hallados en los huevos se encuentran en las cloacas.

6. PROPUESTA PARA ESTUDIOS FUTUROS

Entre los aislamientos fúngicos se identificaron hongos patógenos y debido al carácter original de este trabajo, la información proporcionada aquí puede considerarse como base para diversas investigaciones. Es una herramienta útil para identificar, dentro de las especies fúngicas listadas, aquellas capaces de ejercer un efecto negativo en caimanes silvestres. Es de necesidad continuar con estos relevamientos de diversidad fúngica en ambientes naturales ya que, muchas de las micosis emergentes en animales silvestres tienen su origen en estos ambientes y sus agentes son hongos de los que, generalmente, no se tiene información previa sobre su acción patogénica o está escasamente documentada. Además, este tipo de trabajo en hábitats naturales continua aportando información sobre la diversidad de especies fúngicas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ABELLA, E., MARCO, A., DIÉGUEZ URIBEONDO, J. Y LÓPEZ JURADO, L.F. 2008. Pathogenic effect of microorganisms on loggerhead eggs. En: 28th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. Loreto, Baja California Sur, Mexico, January.
- ACKERMAN, R.A. 1997. The nest environment and the embryonic development of sea turtles. En: Lutz, P.L. y Musick, J.A. (Eds.). *Biology of sea turtles*, 83 – 106. New York: CRC Press.
- ACUÑA-MESÉN, R.A. 1990. El impacto del fuego y la sequía sobre la estructura de la población de *Kinosternon scorpiodes* (Testudines: Kinostemidae) en Palo Verde, Guanacaste, Costa Rica. *Brenesia*, 33: 85 – 97.
- AINSWORTH, G.C. Y BISBY, S. 1983. *Dictionary of the Fungi*. Tenth edition. Kirk, P.M., Minter, D.W. y Stalpers, J.A. (Eds.). CABI: Wallingford
- ALEXOPOULOS, C.J., MIMS, C.W. Y BLACKWELL, M. 1996. *Introductory Mycology*. 4 ed. New York: John Wiley & Sons. 214 – 250.
- ANDO, K. 1992. A study of terrestrial aquatic fungi. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, 33: 415 – 425.
- ARTURI, M. 2005. Ecorregión del Espinal. En: *La Situación Ambiental de la Argentina*, 241 – 260.
- AUSTWICK, P. Y KEYMER, I.F. 1981. Fungi and actinomycetes. En: Cooper, J.E. y Jackson, O.F. (Eds.). *Diseases of the Reptilia*. London, Academic Press, 193 – 231.

- BALDANI, V.L.D., BALDANI, J.I. Y DOBEREINER, J. 2000. Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 30: 485 – 491.
- BARROS, T., JIMÉNEZ-ORAÁ, M., HEREDIA, H. J. Y SEIJAS, A. E. 2010. Artificial incubation of wild-collected eggs of American and Orinoco crocodiles (*Crocodylus acutus* and *C. intermedius*), Guárico and Zulia, Venezuela. *Conservation Evidence*, 7: 111 – 115.
- BERRANG, M.E., COX, N.A., FRANK, J.F. Y BUHR, R.J. 1999. Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatchling eggs: A Review. *Apply Poultry Science*, 8: 454 – 499.
- BILLS, G.F. Y FOSTER, M.S. 2004. Formula for selected materials used to isolate and study fungi and fungal allies. En: Mueller, G.M., Bills, G.F. y Foster, M.S. (Eds.). *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. New York, Academic Press.
- BILLS, G.F., CHRISTENSEN, M., POWELL, M. Y GREG, T. 2004. Saprobic Soil Fungi. En: Mueller, G., Foster, M. y Bills, G. (Eds.). *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. Capítulo 13: 271 – 302. New York, Academic Press.
- BÓ, R.F. 2005. Situación ambiental en la ecorregión Delta e islas del Paraná: 131-143. En: Brown, A., U. Martinez Ortiz, M. Acerbi y J. Corcuera (Eds.). *La Situación Ambiental Argentina 2005*, Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires, 2006, 587 pp.
- BRADBURY, D.C. Y FIRESTONE, M.K. 2012. Responses of Redwood Soil Microbial Community Structure and N Transformations to Climate Change. General Technical Report psw-gtr-227 – 239.

- BRANDT, L.A Y MAZZOTTI, F.J. 2000. Nesting of Alligators at the Arthur R. Marshall Loxahatchee National Wildlife Refuge. *Florida Field Naturalist*, 28 (3): 122 – 126.
- BRAUN-BLANQUET, J.J. 1932. *Plant sociology, the Study of Plant Communities*. Traducción del alemán. Revisión y Edición de Fuller G.D y Conrad H.S. Reimpreso: Hafner Pub. Co. Nueva York (NY), 439p.
- BROWN, A., MARTINEZ ORTIZ, U., ACERBI, M. Y CORCUERA, J., (Eds.). 2005. *La Situación Ambiental Argentina 2005*, Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires, 587p.
- BUENVIAJE, G.N., LADDS, P.W., MELVILLE, L. Y MANOLIS, S.C. 1994. Disease-Husbandry associations in farmed crocodiles in Queensland and the Northern Territory. *Australian Journal of Veterinary*, 71: 165 – 173.
- BUENVIAJE, G.N., LADDS, P.W. Y MARTIN, Y. 1998. Pathology of skin diseases in crocodiles. *Australian Journal of Veterinary*, 76: 357 – 363.
- BULL, J.J. 1983. *The Evolution of Sex Determining Mechanisms*. Menlo Park, CA: Benjamin/Cummings.
- BURKART, R.N., BÁRBARO, N., SÁNCHEZ, R. Y GÓMEZ, D. 1999. Eco-regiones de la argentina. *APN-PRODIA*, 43p.
- BUTINAR, L., SANTOS, S., SPENCER-MARTINS, I., OREN, A. Y GUNDE-CIMEMRMAN, N. 2005. Yeast diversity in hypersaline habitats. *Federation of European Microbiological Societies*, 244: 229 – 234.
- CABAÑES, F.J., ALONSO, J.M., CASTELLA, G., ALEGRE, F., DOMINGO, M. Y PONT, S. 1997. *Cutaneous hyalohyphomycosis* caused by *Fusarium solani* in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta* L.). *Journal of Clinical Microbiology*, 35: 3343 – 3345.

- CABRERA, A.L. 1971. Fitogeografía d la Republica Argentina. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica, 14: 1 – 42.
- CAMPBELL, M.R. Y MAZZOTTI, F.J. 2004. Characterization of natural and artificial Alligator holes. Southeastern naturalist, 3 (4): 583 – 594.
- CANNON, P.F. Y SUTTON, B.C. 2004. Microfungi on wood and plant debris. En: Mueller, G., Foster, M. y Bills, G. (Eds.). Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. Capítulo 11: 217 – 239. New York, Academic Press.
- CAÑEDO, V. Y AMES, T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú, 62 p.
- CARACO, N., COLE, J., FINDLAY, S. Y WINGAND, C. 2006. Vascular plants as engineers of oxygen in aquatic systems. BioScience, 56: 219 – 225.
- CASCALES-MIÑANA, B. 2010. Testing similarity coefficients for analysis of the fossil record using clustering method: The paleozoic flora as a case of study. Revista Española de Paleontología, 25(1): 19 – 34.
- CAVALIER-SMITH, T. 2001. Obcells as proto-organisms: membrane heredity, lithophosphorylation, and the origins of the genetic code, the first cells, and photosynthesis. Journal of Molecular Evolution, 53: 555 – 595.
- CHRISTENSEN, M. 1989. A view of fungal ecology. Mycologia, 81: 1 – 19.
- CLARKE, D.C. Y CHRISTENSEN, M. 1981. The soil microfungal community of a South Dakota grassland. Canadian Journal of Botany, 59: 1950 – 1960.
- CLUSELLA TRULLAS, S. Y PALADINO, S.F. 2007. Micro-environment of olive ridley turtle nests deposited during an aggregated nesting event. Journal of Zoology, 272 (4): 367 – 376.

- COLWELL, R.K. 2009. Estimates 8.2 User´s Guide: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Department of Ecology and Evolutionary Biology. University of Connecticut, Storrs, USA.
- COLWELL, R.K. Y CODDINGTON, J.A. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 345: 101 – 118.
- COOK, M.I., BEISSINGER, S.R., TORANZOS, G.A., RODRIGUEZ, R.A. Y ARENDT, W.J. 2004. Microbial infection affects egg viability and incubation behavior in tropical passerine. *Behaviour Ecology*, 16 (1): 30 – 36.
- COOKE, R.C. Y RAYNER, A.D.M. 1984. *Ecology of Saprotrophic Fungi*. London & New York, Longman.
- COOKE, R.C. Y WHIPPS, J.M. 1993. Evolution, ecology and physiology. En: *Ecophysiology of fungi*. Blackwell Scientific Publications. Londres, 337p.
- CRAIN, C.M. Y BERTNESS, M.D. 2006. Ecosystem engineering across environmental gradients: Implications for conservation and management. *Bioscience*, 56: 211 – 218.
- DAVIS, B.M. 2001. Improved Nutrition and Management of Farmed Crocodiles, from Hatching to Harvest. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Barton , AU RIRDC Publication No. 01/123.
- DE REU, K., GRIJSPEERDT, K., MESSENS, W., HEYNDRIKX, M., UYTENDAE, M., DEBEVERE, J. Y HERMAN, L. 2006. Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria including *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology*, 112: 253 – 260.
- DEACON, J. 2006. *Fungal Biology*. Wiley-Blackwell, New York.

- DENSMORE, C.L. Y GREEN, D.E. 2007. Diseases of amphibians. Institute for Laboratory Animal Research Journal, 48: 235 – 254.
- DIGHTON, J. 2003. Fungi in Ecosystem Processes. Marcel Dekker Inc. New York, 432 pp.
- DIX, N.J. Y WEBSTER, J. 1995. Fungal Ecology. Chapman & Hall. London, 549 pp.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W. Y ANDERSON, T. 1993. Compendium of Soil Fungi. New York, Academic Press.
- ELF, P. K. 2003. Yolk steroid hormones and sex determination in reptiles with TSD. General and Comparative Endocrinology, 132: 349 – 355.
- ELLIS, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- ELLIS, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Kew: Commonwealth Mycological Institute.
- ELSHAFIE, A., AL-BAHRY, S.N., ALKINDI, A.Y., BA-OMAR, T. Y MAHMOUD, I. 2007. Mycoflora and Aflatoxins in soil, eggshells and failed eggs of *Chelonia Mydas* at Ras Al- Jinz, Oman. Chelonian Conservation Biology, 6 (2): 267 – 270.
- ENWEANI, I.B., UWAJEH, J.C., BELLO, C.S. Y NDIP, R.N. 1997. Fungal carriage in lizards. Mycoses, 40: 115 – 117.
- EUCKER, J., SEZER, O., GRAF, B. Y POSSINGER, K. 2001. Mucormycoses. Mycoses, 44: 253 – 260.
- EWERT, M.A., JACKSON, D.R. Y NELSON, C.E. 1994. Patterns of temperature dependent sex determination in turtles. Journal of Experimental Zoology, 270: 3 – 15.

- EWERT, M.A., NELSON, C.E., 2003. Metabolic heating of embryos and sex determination in the American alligator, *Alligator mississippiensis*. *Journal of Thermal Biology*, 28: 159 – 165.
- FELDMAN, T.S., MORSY, M.R. Y ROOSSINCK, M.J. 2012. Are communities of microbial symbionts more diverse than communities of macrobial hosts?. *Fungal Biology*, 116: (4): 465 – 477.
- FERGUSON, M.W.J. 1982. The structure and composition of the eggshell and embryonic membranes of *Alligator mississippiensis*. *Transactions of the Zoological Society of London*, 36 (2): 99 – 152.
- FISHER, P.J.O, PETRINI, L.E. Y SUTTON, B.C. 1994. Fungal endophytes from the leaves and twigs of *Quercus ilex* L. from England, Majorca and Switzerland. *New Phytologist*, 127 (1): 133 – 137.
- FOGARTY, M. J. 1974. The ecology of the everglades alligators. En: P. J. Gleason, (Ed.). *Environments of south Florida: present and past*. Miami Geological Society. Miami, FL, 367 – 374.
- FRANKLAND, J.C. 1982. Biomass and nutrient cycling by decomposer basidiomycetes. En: Frankland, J.C., Hedger, J.N., y Swift, M.J. (Eds.). *Decomposer Basidiomycetes: Their Biology and Ecology*. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom, 241 – 261.
- FRELIER, P.F., SIGLER, L., Y NELSON, P.E. 1985. Mycotic pneumonia caused by *Fusarium moniliforme* in an alligator. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 23: 399 – 402.
- FRISVAD, J.C., SMEDSGAARD, J., LARSEN, T.O. Y SAMSOM, R.A. 2004. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 49: 201 – 241.

- FRYAR, S.C., GREG, C.K. Y HIDE, K.D. 1999. Species abundance patterns of two wood decay basidiomycete communities. *Fungal Diversity*, 3: 39 – 56.
- FRYAR, S.C., WEBBER B., JONATHAN D., HODGKISS, I.J Y HYDE K. D. 2005. Evidence of in situ competition between fungi in freshwater. *Fungal Diversity*, 18: 59 – 71.
- FUKASAWA, Y., OSONO, T. Y TAKEDA, H. 2009. Microfungus communities of Japanese beech logs at different stages of decay in a cool temperate deciduous forest. *Canadian Journal of Forest Research*, 39: 1606 – 1614.
- GANTES, P. Y TORREMORELL, A. 2005. Production and decomposition in floating soils of the Iberá wetlands (Argentina). *Limnetica*, 24: 203 – 210.
- GARCÍA-MARTOS, P.G., GARCÍA-AGUDO, L.G., RUIZ-ARAGÓN, J.R., SALDARREAGA, A. Y MARÍN, P. 2004. Asimilación de carbohidratos por cepas de *Rhodotorula glutinis* de origen ambiental y clínico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 21: 90 – 92.
- GARTRELL, B.D. Y HARE, K.M. 2005. Mycotic dermatitis with digital gangrene and osteomyelitis, and protozoal intestinal parasitism in Marlborough green geckos (*Naultinus manukanus*). *New Zealand Veterinary Journal*, 53: 363 – 367.
- GERNANDT, D.S., PLATT, J.L., STONE, J.K., SPATAFORA, J.W., HOLST-JENSEN, A., HAMELIN, R.C. Y KOHN, L.M. 2001. Phylogenetics of Helotiales and Rhytismatales based on partial small subunit nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycologia*, 93: 915 – 933.
- GESSNER, R.V Y GOOS, R.D. 1973. Fungi from *Spartina alterniflora* in Rhode Island. *Mycologia*, 65: 1296 – 1301.

- GINSBURG, R. Y ADÁMOLI, J. 2005. Ecorregión chaco húmedo. En: Brown, A., U. Martínez Ortiz, M. Acerbi y J. Corcuera (Eds.). La Situación Ambiental Argentina 2005, Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires, 587 pp.
- GÖNCZÖL, J. Y RÉVAY, Á. 2004. Fungal spores in rainwater: stemflow, throughfall and gutter conidial assemblages. *Fungal Diversity* 16: 67 – 86.
- GOODWIN, T.M. Y MARION, W.R. 1978. Aspects of the nesting ecology of American alligator (*Alligator mississippiensis*) in North-Central Florida. *Herpetologica*, 34: 43 – 47.
- GRIFFIN, D.H. 1996. Fungal Physiology. Jhon Wiley & Sons (Eds.) 2nd Edition. 425 pp.
- GRIGG, G.C. Y BEARD, L. 1985. Water loss and gain by eggs of *Crocodylus porosus*, related to incubation age and fertility. En: C. Grigg, R. Shiney y H. Ehnamm (Eds.). *Biology of australiasian frogs and reptiles*. Survey Beatty and Sors. Australia, 353 – 359.
- GÜÇLÜ, Ö., BIYIK, H., Y ŞAHINER, A. 2010. Mycoflora identified from Loggerhead turtle (*Caretta caretta*) egg shells and nest sand at Fethiye beach, Turkey. *African Journal of Microbiology Research*, 4 (5): 408 – 413.
- GUSMÃO, L.F., GRANDI, R.A. Y MILANEZ, A.I. 2001. Hyphomycetes from leaf litter of *Miconia cabussu* in the Brazilian Atlantic rain forest. *Mycotaxon*, 79: 201 – 213.
- HAMMER, Ø., HARPER, D.A.T. Y RYAN, P.D. 1999. PAST - Paleontological Statistics, ver. 1.90. <http://folk.uio.no/ohammer/past>.
- HAWKSWORTH, D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105: 1422 – 1432.

- HECNAR, S. J. 1994. Nest distribution, site selection, and brooding in the Five-lined skink (*Eumeces fasciatus*). *Canadian Journal of Zoology*, 72: 1510 – 1516.
- HEINZENKNECHT, G.M. 2005. Impacto De “El Niño” Y “La Niña” sobre las precipitaciones. En: Subproyecto Riesgo y Seguro Agropecuario, 58p.
- HIBBERD, E.M., PIERCE, R.J., HILL, B.D. Y KELLY, M.A. 1996. Diseases of juvenile estuarine crocodiles, *Crocodylus porosus*. En: Proceedings of the 13th Working Meeting of the IUCN Crocodile Specialist Group, 303 – 312.
- HIBBERD, E.M.A. Y HARROWER, K.M. 1993. Mycoses in crocodiles. *Micologist*, 7: 32 - 37.
- HIBBETT, D.S., BINDER, M., BISCHOFF, J.F., BLACKWELL, M., CANNON, P.F., ERIKSSON, O.E., HUHDORF, S., JAMES, T., KIRK, P.M., LÜCKING, R., THORSTEN LUMBSCH, H., LUTZONI, F., BRANDON MATHENY P., MCLAUGHLIN, D.J., POWELL, M.J., REDHEAD, S., SCHOCH, C.L., SPATAFORA, J.W., STALPERS, J.A., VILGALYS, R., AIME, M.C., APTROOT, A., BAUER, R., BEGEROW, D., BENNY G.L., CASTLEBURY, L.A., CROUS, P.W., DAI, Y.C. , GAMS, W., GEISER, D.M., GRIFFITH, G.W., GUEIDAN, C., HAWKSWORTH, D.L., HESTMARK, G., HOSAKA, K., HUMBER, R.A., HYDE, K.D., IRONSIDE, J.E., KÖLJALG, U., KURTZMAN, C.P., LARSSON, K.H., LICHTWARDT, R., LONGCORE, J., MIADLIKOWSKA, J., MILLER, A., MONCALVO, J.M., MOZLEY-STANDRIDGE, S., OBERWINKLER, F., PARMASTO, E., REEB, V., ROGERS, J.D., ROUX, C., RYVARDEN, L., SAMPAIO, J.P., SCHÜBLER, A., SUGIYAMA, J., THORN, R.G., TIBELL, L., UNTEREINER, W.A., WALKER, C., WANG, Z., WEIR, A., WEISS, M., WHITE, M.M., WINKA, K., YAO, Y.J. Y ZHANG, N. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111: 509 – 547.
- HIGGINS, K.L., COLEY, P.D., KURSAR, T.A. Y ARNOLD, A.E. 2011. Culturing and direct PCR suggest prevalent host generalism among diverse fungal endophytes of tropical forest grasses. *Mycologia*, 103: 247 – 260.

- HILGERT, N.I., PENSIERO, J.F., MARINO, G., LEWIS, J.P. Y D'ANGELO, C. 2003. Vegetation of The Saladillo Area (Province of Santa Fe) In The South Of The Chaco, Argentina. *Interciencia*, 28 (9): 512 – 520.
- HOLZ, P.H. Y SLOCOMBE, R. 2000. Systemic Fusarium infection in two snakes, a carpet python, *Morelia spilota variegata*, and a red-bellied snake, *Pseudechis porphyriacus*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 10: 18 – 20.
- HUCHZERMEYER, F.W. 2003. Crocodiles: Biology, Husbandry and Diseases. CABI publishing. Cambridge, CABI publishing, 323 pp.
- HUTTON, J., Y WEBB, G.. 2002. Legal trade snaps back: using the experience of crocodilians in draw lessons on regulation of the wildlife trade. En: Crocodiles. Proceedings of the 16th Working Meeting of the CSG-IUCN - The World Conservation Union. Gland, Switzerland, 1 – 5.
- INFOSTAT. 2008. InfoStat, versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas, Argentina.
- IRIONDO, M.H. 2007. Geomorphology. En: Iriondo, M.H., Paggi, J.J., Parma, M.J. (Eds.). The middle parana river: limnology of a subtropical wetland. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 33 – 52.
- IRIONDO, M.H. Y PAIRA, A.R. 2007. Physical geography of the basin. En: Iriondo, M.H., Paggi, J.J., Parma, M.J. (Eds.). The middle parana river: limnology of a subtropical wetland. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 7 – 31.
- IUNGMAN, J. 2012. Influencia de la concentración de oxígeno sobre el desarrollo, supervivencia y diferenciación sexual de embriones de *Caiman latirostris*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Rosario.
- JACOBSON, E., CHEATWOOD, J. Y MAXWELL, L. 2000. Mycotic diseases of reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 9: 94 – 101.

- JAKOB, E. M., MARSHALL, S. D. Y UETZ, G.W. 1996. Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos*, 77: 61 – 67.
- JAMES, T.Y., PORTER, D., LEANDER, C.A., VILGALYS, R. Y LONGCORE, J.E. 2000. Molecular phylogenetics of the Chytridiomycota supports the utility of ultrastructural data in chytrid systematics. *Canadian Journal of Botany*, 78: 336 – 350.
- JASMIN, A.M., CARROLL, J.M. Y BAUCOM, J.N. 1968. Pulmonary aspergillosis of the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *American Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 2: 93 – 95.
- JONES, C.G., J.H. LAWTON, Y M. SHACHAK. 1994. Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, 69: 373 – 386.
- JONES, R.T., ROBESON, M.S., LAUBER, C.L., HAMADY, M., KNIGHT, R. Y FIERER, N. 2009. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 3: 442 – 453.
- KERN M.D. Y FERGUSON M.W.J. 1997. Gas permeability of American alligator eggs and its anatomical basis. *Physiological Zoology*, 70 (5): 530 – 546.
- KJØLLER, A. Y STRUWE, S. 1982. Microfungi in ecosystems: fungal occurrence and activity in litter and soil. *Oikos*, 39: 389 – 422.
- KLECZEWSKI, N.M., BAUER, J.T., BEVER, J.D., CLAY, K. Y REYNOLDS, H.L. 2012. A survey of endophytic fungi of switchgrass (*Panicum virgatum*) in the Midwest, and their putative roles in plant growth. *Fungal Ecology*, 5 (5): 509 – 520.
- KOHLMEYER, J. Y VOLKMANN-KOHLMEYER, B. 1991. Illustrated key to the filamentous marine fungi. *Botanica Marina*, 34: 1 – 61.
- KOLEFF, P. 2005. Capítulo 2: Conceptos y medidas de la Diversidad Beta. En: Halffter, G., Soberón, J., Koleff, P. y Melic, A. (Eds.). *Sobre Diversidad*

- Biológica: el Significado de las Diversidades Alfa, Beta y Gamma. 19 - 40. Monografías Tercer Milenio vol.4, S.E.A. Zaragoza, España, 242 pp.
- KOLEFF, P., GASTON, K.J. Y LENNON, J.J. 2003. Measuring beta diversity for present-absence data. *Journal of Animal Ecology*, 72: 367 – 382.
- KOWALIK, M. 2012. Fungi and chromistan fungi associated with plants white water lily *Nymphaea alba* L. during the vegetation season. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 11 (2): 167 – 172.
- KRUG J.C. 2004. Moist chambers for the development of fungi. En: Mueller G., Foster M. y Bills G (Eds.). *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. Appendix I, 589 – 593. New York, Academic Press.
- LACEY, J. 1989. Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products. *Journal of Applied Bacteriology*, Symposium supplement, 11S – 25S.
- LADDS, P. 2009. *Pathology of Australian Native Wildlife*. Collingwood, CISRO Publishing, 640 pp.
- LANCE, V.A. Y BOGART, M.H. 1994. Studies on sex determination in the American alligator, *Alligator mississippiensis*. *Journal of Experimental Zoology*, 270: 70 – 85.
- LANCE V.A. 2003. Alligator physiology and life history: the importance of temperature. *Experimental Gerontology*, 38 (7): 801 – 805.
- LANG, J. W Y ANDREWS, H. V. 1994. Temperature sex determination in crocodylians. *Journal of Experimental Zoology*, 270: 28 – 44.
- LARRIERA, A. 1994 Tamaño de postura y éxito reproductivo de yacarés (*Caiman latirostris*) en Santa Fe, Argentina. *Vida Silvestre Neotropical*, 3: 118 – 119.

- LARRIERA, A. 1995. Áreas de nidificación y momento óptimo de cosecha de huevos de *Caiman latirostris* en Santa Fe, Argentina. En: A. Larriera y L. M Verdade (Eds.), La Conservación y el Manejo de los Caimanes en América Latina. 1: 221 – 232. Fundación Banco Bica, Santo Tome, Santa Fe, Argentina.
- LARRIERA A. E IMHOF, A. 2000. Proyecto Yacaré, Santa Fe, Argentina: A sustainable use proposal. En: Proceedings of the 15th working meeting of the CSG-IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 311 – 313.
- LARRIERA A., PIÑA, C., SIROSKI, P. Y VERDADE, L. 2004. Allometry of reproduction in wild Broad-snouted caimans (*Caiman latirostris*). Journal of Herpetology, 38: 301 – 304.
- LARRIERA, A. E IMHOF, A. 2006. Proyecto Yacare. En: Manejo de Fauna Silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable. Maria L. Bolkovic y Daniel Ramadoni (Eds.), 1a (Ed.). Ministerio de Salud y Medio Ambiente de la Nacion. Bs. As., 51 – 63.
- LARRIERA, A., IMHOF, A. Y SIROSKI, P. 2008. Estado actual de los programas de conservación y manejo del género *Caiman* en Argentina. En: Castroviejo, J., Ayarzagüena, A. y Velasco, A. (Eds.). Contribución al conocimiento del Género *Caiman* en Suramérica. Public. Asoc. de Doña Ana 18, Sevilla, España.
- LEWIS, J.P. Y PIRE, E.F. 1981. Reseña sobre la vegetación del Chaco santafesino. La vegetación de la República Argentina. INTA, Serie Fitogeográfica, 18: 1 – 48.
- LEWIS, J.P., PIRE, E.F. Y VESPRINI, J.L. 1994. The mixed dense forest of the Southern Chaco. Contribution to the study of the flora and vegetation of the Chaco VIII. Candollea, 49: 159 – 168.

- LEWIS, J.P., PIRE, E.F., BARBERIS, I.M. Y PRADO, D.E. 2006. Los bosques del Espinal Periéstépico en las proximidades de la localidad de Coronda, provincia de Santa Fe (Argentina). *Revista Investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias, U.N.R.*, 10: 13 – 26.
- LITZGUS, J.D., BOLTON, F. Y SCHULTE-HOSTEDDE, A.I. 2008. Reproductive output depends on body condition in spotted turtles (*Clemmys guttata*). *Copeia*, 1: 86 – 92.
- LODGE D.G, AMMIRATI, J.F., O'DELL, T.E., MUELLER, G.M., HUHDORF, S.M., WANG, C.J., STOKLAND, J.N., SCHMIT, J.P., RYVARDEN, L., LEACOCK, P.R., MATA, M., UMAÑA, L., WU, Q. Y CZEDERPILTZ, D.L. 2004. Terrestrial and Lignicolous Macrofungi. En: Mueller, G., Foster, M. y Bills, G. (Eds.). *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. Capítulo 8, 127-172. New York, Academic Press.
- LODGE, D.J. 1995. A survey of patterns of biodiversity in non-lichenized fungi. *Mitteilungen der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft*, 70: 157 – 173.
- MAGNUSSON, W.E, LIMA, A.P. Y SAMPAIO, R.M. 1985. Sources of heat for nests of *Paleosuchus trigonatus* and a review of crocodylian nest temperatures. *Journal of Herpetology*, 19 (2): 199 – 207.
- MAGURRAN, A.E. 1988 *Ecological diversity and its measurement*. London, Croom Helm, 256 p.
- MANDYAM, K., LOUGHIN, T. Y JUMPPONEN, A. 2010. Isolation and morphological and metabolic characterization of common endophytes in annually burned tallgrass prairie. *Mycologia* 102: 813 – 821.
- MARCHESE, M., EZCURRA DE DRAGO, I. Y DRAGO, E. 2002. Benthic macroinvertebrates and physical habitat relationship in the Paraná flood-plain system. En: IAHS

- (Eds.). The ecohydrology of south american rivers and wetlands, IAH Special Publication.
- MARTÍNEZ SILVESTRE, A., SILVEIRA, L., MATEO, J. A., URIOSTE, J., RODRÍGUEZ-DOMÍNGUEZ, M. Y PETHER, J. 2003. Microbiología cloacal en lagartos gigantes amenazados de las Islas Canarias (género *Gallotia*) en cautividad. Revista Española de Herpetología, 17: 29 – 37.
- MATSUSHIMA, T. 1993. Matsushima Mycological Memoirs 7. Published by the author: Kobe.
- MATTEUCCI, S.D. Y COLMA, A. 2002. Metodología para el estudio de la vegetación. Versión digital de la Monografía Científica N° 22, Serie de Biología, Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington DC, U.S.A. Ilustrado. 154p.
- MAZZOTTI, F. J., KUSHLAN, J. A. Y DUNBAR-COOPER, A., 1988. Deseccation and cryptic nest flooding as probable causes of egg mortality in the american crocodile, *Crocodylus acutus*, in Everglades National Park, Florida. Florida Scientist, 51 (2): 65 – 72.
- MERCHANT, M., WILLIAMS, S., TROCLAIR Y ELSEY, R.M. 2007. Febrile Response in the American Alligator (*Alligator mississippiensis*). Comparative Biochemistry and Physiology, 148 (4): 921 – 925.
- MICUCCI, P. Y WALLER, T. 1995. Los yacares en Argentina: hacia un aprovechamiento sustentable. 1: 81 – 112. En: Larriera, A. y L. M. Verdade (Eds.). La Conservación y el Manejo de Caimanes y Cocodrilos de América Latina. Fundación Banco Bica, Santo Tomé, Santa Fe, Argentina.
- MIGAKI, G., JACOBSON, E.R. Y CASEY, H.W. 1984. Fungal diseases in reptiles. En: Hoff, G.L., Frye, F.L. y Jacobson, E. (Eds.). Diseases of Amphibians and Reptiles. New York, Plenum Press, 183 – 204.

- MILLER, D.L., RADI, Z.A., STIVER, S.L. Y THORNHILL, T.D. 2004. Cutaneous and pulmonary mycosis in green anacondas (*Eunectes murinus*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 35 (4): 557 – 561.
- MITCHELL, M.A. Y TULLY, T.N. 2009. Micotic disease in reptiles. En: Manual of Exotic Pet Practice. St. Louis, Missouri, Saunders Elsevier, 546 pp.
- MONTINI J.P., PIÑA, C.I., LARRIERA, A., SIROSKI, P. Y VERDADE, L.M. 2006. The relationship between nesting habitat and hatching success in *Caiman Latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). Phyllomedusa, 5 (2): 91 – 96.
- MOREIRA LOPES, P. Y BARATA, M. 2005. Egg mortality and early embryo hatching caused by fungal infection of Iberian Rock Lizard (*Lacerta monticola*) clutches. Herpetological Journal, 15: 265 – 272.
- MORENO, C.E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T–Manuales y Tesis SEA, vol.1. Zaragoza, 83 pp.
- MOSS, M.O. 1991. The environmental factors controlling mycotoxin formation. En: Smith, J.E. y Henderson, R.S. (Eds.). Mycotoxins and Animal Foods. CRC Press. Boca Ratón, Florida, 37 – 56.
- NARDONI, S., PAPINI, R., MARCUCCI, G. Y MANCIANTI, F. 2008. Survey on the fungal flora of the cloaca of the cloaca of healthy pet reptiles. Revue de Médecine Vétérinaire, 3: 159 – 165.
- NEIFF, J.J. 2004. El Iberá ¿En Peligro?. 1ª ed. Fundación Vida Silvestre Argentina, 1. Ecología. Buenos Aires, 100p
- NEIFF, J. J. Y MALVÁREZ, A.I. 2004. Grandes humedales fluviales. En: Malvárez, A. I. y Bó, R.F. (Eds.). Documentos del Curso Taller Bases ecológicas para la clasificación e inventario de humedales en Argentina, Buenos Aires, 77 – 95.

- NIRENBERG, H. 1976. Untersuchungen ueber die morphologische und biologische differenzierung in der *Fusarium*-sektion liseola. Mitteilungen Biologischer Bundesanstalt Ld-u, Forstw, 169 – 117.
- NOHORA, C.M. 2010. Modelo de aptitud de hábitat (IAH) para las dos especies de yacaré (*Caiman yacaré* y *C. latirostris*) en los Esteros del Ibera, Corrientes, Argentina. Tesis Máster en Gestión Ambiental, 106p.
- NUÑEZ OTAÑO, N.B., IMHOF, A., BOLCATTO, P.G. Y LARRIERA, A. 2010. Sex differences in the genitalia of hatchling *Caiman latirostris*. Herpetological Review, 41: 32 – 35.
- ÖZDEMİR, B. Y TÜRKÖZAN, O. 2006. Hatching success of original and hatchery nests of the green turtle, *Chelonia mydas*, in Northern Cyprus. Turkish Journal of Zoology, 30: 377 – 381.
- PACKARD, G.C. Y PACKARD, M.J. 1988. The physiological ecology of reptilian eggs and embryos. En: Biology of the reptilia. Gans, C. y Huey, R.B. (Eds.). New York, Liss, 16: 523 – 605.
- PALACIOS, I.D. Y SICK, M.S. 2004. Isolation and identification of microorganisms on the eggs of *Caiman crocodilus fuscus* from three farms on the Atlantic Coast of Colombia. Proceedings of 18th Working Meeting Crocodile Specialist Group/IUCN, 17: 416 – 419.
- PALMER, M. Y MAZZOTTI, F.J. 2004. Structure of everglades alligator holes. Wetlands, 24: 115 – 122.
- PAOLI, C., IRIONDO, M. Y GARCÍA, N. 2000. El río Paraná en su tramo medio. Contribución al conocimiento y prácticas ingenieriles en un gran río de llanura". Capítulo 1, Tomo I, En: Paoli, C. y M. Schreider. Ediciones UNL, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

- PARÉ, J.A., SIGLER, L., RYPIEN, K. L. Y GIBAS, C.C. 2003. Survey for the *Chrysosporium anamorph* of *Nannizziopsis vriesii* on the skin of healthy captive squamate reptiles and notes on their cutaneous fungal mycobiota. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 13: 10 – 15.
- PARKINSON, D. Y WILLIAMS, S. 1961. A method for isolating fungi from soil. *Nature*, 166: 117 – 118.
- PATINO MARTINEZ J., MARCO, A., QUIÑONES, L., ABELLA, E., MURIEL ABAD, R. Y DIÉGUEZ-URIBEONDO, J. 2012. How do hatcheries influence embryonic development of sea turtle eggs? Experimental analysis and isolation of microorganisms in Leatherback Turtle eggs. *Journal of Experimental Zoology*, 317: 47 – 54.
- PAZ, D.A., YANOSKY, A.A., MERCOLLI, C. Y PISANÓ, A. 1995. Structure of eggshells from two sympatric species of caimans (*Caiman latirostris* y *C. yacare*) (Crocodylia: Alligatorinae). *Animal Biology* 4(2):71 – 77.
- PETERS, A., VERHOEVEN, K.J.F. Y STRIJBOOSCH, H. 1994. Hatching and emergence in the Turkish Mediterranean loggerhead turtle, *Caretta caretta*: natural cause for egg and hatchling failure. *Herpetologica* 50: 369 – 373.
- PETROVIČ, U., GUNDE-CIMERMAN, N. Y ZALAR, P. 2000. Xerotolerant mycobiota from high altitude Anapurna soil, Nepal. *FEMS Microbiology Letters*, 182: 339 – 342.
- PEUCKER, S.K.J., DAVIS, B.M. Y VAN BARNEVELD, R.J. 2005. Crocodile Farming Research: Hatching to Harvest. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Publication No. 05/152. Project No. DAQ-287A.
- PHILLOTT A.D. Y C.J. PARMENTER. 2001A. The distribution of failed eggs and the appearance of fungi in artificial nests of green (*Chelonia mydas*) and

- loggerhead (*Caretta caretta*) sea turtles. Australian Journal of Zoology, 49: 713 – 718.
- PHILLOTT A.D. AND PARMENTER C.J. 2001B. Influence of diminished respiratory surface area on survival of sea turtle embryos. Journal of Experimental Zoology, 289: 317 – 321.
- PHILLOT, A.D., PARMENTER, C.J., LIMPUS, C.J. Y HARROWER, K.M. 2002. Mycobiota as acute and chronic cloacal contaminant of female sea turtles. Australian Journal of Zoology, 50: 687 – 695.
- PHILLOT A.D., PARMENTER C.J. Y LIMPUS C.J. 2004 Ocurrance of micobiota in eastern australian sea turtle nests. Memoirs of Queensland Museum, 49: 701 – 703.
- PHILLOTT, A.D. Y PARMENTER, C.J. 2006. The eggshell ultrastructure of sea turtles does not contribute to interspecies variation in fungal invasion of the egg. Canadian Journal of Zoology, 84: 1339 – 1344.
- PHILLOT, A.D., PARMENTER, C.J. Y MCKILLUP, S.C. 2006. Calcium depletion of eggshell after fungal invasion of sea turtle eggs. Chelonian Conservation and Biology, 5: 146 – 149.
- PHOTITA, W., LUMYONG, S., LUMYONG, P., MCKENZIE, E.H.C., HYDE, K.D. 2004. Are some endophytes of *Musa acuminata* latent pathogens. Fungal Diversity, 16:131 – 140.
- PIANKA, E.R. Y VITT, L.J. 2003. Lizards: Windows to the evolution of diversity. Berkeley, University of California Press, 325 pp.
- PIER, A.C., RICHARD, J.L. Y CYSEWSKI, S.J. 1980. Implications of mycotoxins in animal diseases. Journal of the American Veterinary Medical Association, 176 (8): 719 – 724.

- PIÑA C.I., IMHOF, A. Y SIROSKI, P. 1996. Eggs size in *Caiman latirostris* and its effects on clutch size, hatch success, survivorship and growth. En: Crocodiles. Proceedings of the 13th Working Meeting Crocodile Specialist Group/IUCN, Gland, Switzerland, 254 – 261.
- PIÑA, C.I. 2002. *Caiman latirostris* (Broad-snouted Caiman). Thermoregulation. Herpetological Review, 33: 133pp.
- PIÑA, C.I., LARRIERA, A. Y CABRERA, M. 2003. Effect of incubation temperature on incubation period, sex ratio, hatching success, and survivorship in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). Journal of Herpetology, 37: 199 – 202.
- PIÑA C.I., LARRIERA, A., MEDINA, M. Y WEBB, G.J.W. 2007. Effects of incubation temperature on the size of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) at hatching and after one year. Journal of Herpetology, 41: 205 – 210.
- PIONTELLI LAFORET, E. 2007. Morfotaxonomía y filogenia fúngica: Énfasis en Zigo/Ascomycota. Parte I. Universidad de Valparaíso. Escuela de Medicina. Cátedra de Micología.
- PITT, J.I. Y HOCKING, A.D. 1997. Fungi and food spoilage. En: 2nd (Ed.) Blackie Academic and Professional, University Press. Cambridge, UK, 593 pp.
- POLISHOOK, J.D., BILLS, G.F. Y LODGE, D.J. 1996. Microfungi from decaying leaves of two rain forest trees in Puerto Rico. Journal of Industrial Microbiology, 17: 284 – 294.
- PUGH, G.J.F. Y BODDY, L. 1988. A view of disturbance and life strategies in fungi. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Section B. Biological Sciences, 94: 3 – 11.
- RAGONESE, A.E. 1941. La vegetación de la Provincia de Santa Fe (República Argentina).

- RAHN, H. Y PAGANELLI, C.V. 1990. Gas fluxes in avian eggs: driving forces and the pathway for exchange. *Comparative Biochemistry Physiology*, 95A: 1 – 15.
- RAJSHEKHAR, M. Y KAVERIAPPA, K. M. 2003. Diversity of aquatic hyphomycetes in the aquatic ecosystem of the Western Ghats of India. *Hydrobiologia*, 501: 167 – 177.
- RAMÍREZ-GONZALES, A. 2006. Ecología aplicada: Diseño y análisis estadístico. En: Colección estudios de ecología. Universidad de Bogotá, 321p.
- RANGEL, O. Y VELÁZQUEZ, A. 1997. Métodos de estudio de la vegetación. En: Colombia diversidad biótica II. Rangel, O. J. (Eds.). Publicación del Instituto de Ciencias Naturales. U.N.C. e Instituto de Hidrología y Meteorología y Estudios Ambientales, Ministerio del Medio Ambiente, 59 - 82.
- RAYNER, A.D.M. 1994. Pattern-generating processes in fungal communities. En: Ritz, K., Dighton, J., Giller, K.E., (Eds.) *Beyond the Biomass*. British Society of Soil Sciences, Wiley-Sayce, New York.
- REAVILL, D.R., MELLOY, M. Y SCHMIDT, R.E. 2004. Reptile mycotic infections from the literature and 55 cases. En: *Proceedings of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians*. Naples, Florida, 62 - 71.
- REDECKER, D., MORTON, J.B. Y BRUNS, T.D. 2000. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Molecular Phylogenetic Evolution*, 14: 27 – 284.
- ROBINSON, J.R., GRIFFITHS, A. Y JEFFRIES, P. 2003. Susceptibility of frog (*Rana temporaria*) and toad (*Bufo bufo*) eggs to invasion by *Saprolegnia*. *Amphibia – Reptilia*, 24: 261 – 268.
- RUOKOLAINEN, L. 2009. Ecological communities in variable environments-dynamics and diversity under environmental stochasticity. Academic Dissertation, Helsinki.

- SAMARAJEWA, U. 1991. In situ degradation of mycotoxins by physical methods. En: Smith and Handerson (Eds. Ibid).
- SÁNCHEZ MÁRQUEZ, S., BILLS, G.F. Y ZABALGOGÉAZCOA, I. 2007. The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Diversity*, 27: 171 – 195.
- SÁNCHEZ MÁRQUEZ, S., BILLS, G.F., ZABALGOGÉAZCOA, I. 2008. Diversity and structure of the fungal endophytic assemblages from two sympatric coastal grasses. *Fungal Diversity*, 33: 87 – 100.
- SÁNCHEZ S., BILLS G.F., ZABALGOGÉAZCOA I. 2007. The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Diversity*, 27: 171 – 195.
- SARAVANAKUMAR, K. Y KAVIYARASAN, V. 2010. Seasonal distribution of soil fungi and chemical properties of montane wet temperate forest type of Tamil Nadu. *African Journal of Plant Science*, 4 (6): 190 – 196.
- SARMIENTO RAMÍREZ, J.M, ABELLA E, MARTIN MP, TELLERIA MT, LOPEZ-JURADO LF, MARCO A, DIEGUEZ-URIBEONDO J. 2010. *Fusarium solani* is responsible for mass mortalities in nests of loggerhead sea turtle, *Caretta caretta*, in Boavista, Cape Verde. *FEMS Microbiology Letters*, 312: 192 – 200.
- SARRE, S.D., GEORGES, A. Y QUINN, A. 2004. The ends of a continuum: genetic and temperature-dependent sex determination in reptiles. *Bioessays*, 26: 639 – 645.
- SCHNÜRER, J., CLARHOLM, M. Y ROSSWALL, T. 1985. Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *Soil Biology and Biochemistry*, 17: 611 – 618.
- SCHULZ B. Y BOYLE C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109: 661 – 686.

- SCHUMACHER, J. Y CARDEILHAC, P.T. 1990. Mycotic infections of egg membranes in the American alligator (*Alligator mississippiensis*). Proceedings of the International Association of Aquatic Animal Medicine, 21: 138–140.
- SCORSETTI A.C., HUMBER R.A., DE GREGORIO C. Y LÓPEZ LASTRA, C.C. 2008. New records of entomopathogenic fungi (Ascomycota: Hypocreales) infecting *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae), pest of horticultural crops in Argentina. BioControl, 53: 787–796.
- SEIFERT, K.A., MORGAN-JONES, G., GAMS, W. Y KENDRICK, W.B. 2011. The Genera of Hyphomycetes. CBS Biodiversity Series no. 9. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 1001 pp.
- SERDANI, M., KANG, J.C., ANDERSEN, B. Y CROUS, P. 2002. Characterization of *Alternaria* species–groups associated with core rot of apples in South Africa. Mycological Research, 106: 561 – 569.
- SHARMA, G., PANDEY, R. R. Y SINGH, M.S. 2011. Microfungi associated with surface soil and decaying leaf litter of *Quercus serrata* in a subtropical natural oak forest and managed plantation in Northeastern India. African Journal of Microbiology Research, 5 (7): 777 – 787.
- SHEARER, C.A. 1993. THE FRESHWATER ascomycetes. Nova Hedwigia, 56: 1 – 33.
- SHEARER, C.A., DESCALS, E., KOHLMAYER, B., KOHLMAYER, J., MARVANOVÁ, L., PADGETT, D., PORTER, D., RAJA, H.A., SCHMIT, J.P., THORTON, H.A., VOGLYMAYR, H. 2007. Fungal biodiversity in aquatic habitats. Biodiversity Conservation, 16: 49 – 67.
- SIMONCINI, M.S, PIÑA, C.I., CRUZ, F.C. Y LARRIERA, A. 2011. Climatic effects on the reproductive biology of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). Amphibia-Reptilia, 32: 305 – 314.

- SINGH, L.A.K, SRIVASTAVA, S.S., MOHANTY, A.P. Y ROUT, S.D. 2010. Prevention of rubbery-snout and X-Ray revelations on hunchback condition in mugger crocodile (*Crocodylus palustris*). *Zoos' Print Journal*, 16 (4): 465 – 466.
- SIVICHAI, S., HYWEL-JONES, N.L., SOMRITHHIPOL, S. 2000. Lignicolous freshwater Ascomycota from Thailand: *Melanochaeta* and *Sporoschisma* anamorphs. *Mycological Research*, 103: 729 – 735.
- SLIPPERS, B. Y WINGFIELD, M.J. 2007. The Botryosphaeriaceae as endophytes and latent pathogens of trees: Identification, ecology and potential impact. *Fungal Biology Reviews*, 21: 90 – 106.
- SOLOMON, S.E. Y BAIRD, T.. 1980. The effect of fungal penetration on the eggshell of the green turtle. En: P. Brederoo & W. de Priester. *Electron Microscopy 1980, Volume 2, Biology*. Proceedings of the Seventh European Congress on Electron Microscopy Foundation. Seventh European Congress on Electron Microscopy Foundation. Leiden, 434 – 435.
- SRIDHAR, K.R. Y BÄRLOCHER. 2000. Initial colonization, nutrient supply, and fungal activity on leaves decaying in streams. *Applied Environmental Microbiology*, 66: 1114 – 1119.
- STONE, J.K., BACON, C.W. Y WHITE, J.F. 2000. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. En: *Microbial endophytes*, C.W., Bacon y J.F., White, (Eds.). Marcel Dekker Inc. New York, Basel, 3 – 29.
- SUMMERBELL, R.C. 2004. Fungi associated with vertebrates. En: *Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods*. Capítulo 20, 451 - 465. G.M. Mueller, G.F. Bill, & M.S. Foster. (Eds.). New York, Academic Press.
- SUTTON, B.C. 1973. Hyphomycetes from Manitoba and Saskatchewan. *Mycological Papers*, 132: 1 – 143.

- SUTTON, B.C. 1980. The Coelomycetes - Fungi imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
- TANSEY, M.R. 1973. Isolation of thermophilic fungi from Alligator nesting material. *Mycologia*, 65 (3): 594 – 601.
- THOMAS, A.D., SIGLER, L., PEUCKER, S., NORTON, J.H. Y NIELAN, A. 2002. *Chrysosporium anamorph* of *Nannizziopsis vriesii* associated with fatal cutaneous mycoses in the saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*). *Medical Mycology*, 40: 143 – 151.
- THORBJARNARSON, JB. 1996. Reproductive characteristics of the order crocodylia. *Herpetologica*, 52 (1): 8 – 24.
- TREVINO, G.S. 1972. Cephalosporiosis in three caimans. *Journal of Wildlife Disease*, 8: 384 – 388.
- TSUI, C.K.M., HYDE, K.D. Y HODGKISS, I.J. 2000. Biodiversity of fungi on submerged wood in Hong Kong streams. *Aquatic Microbial Ecology*, 21: 289-298.
- UNTERSEHER, M., JUMPPONEN, A., ÖPIK, M.A., TEDERSOO, L., MOORA, M., DORMANN, C.F. Y SCHENITTLER, M. 2011. Species abundance distributions and richness estimations in fungal metagenomics – lessons learned from community ecology. *Molecular Ecology*, 20: 275 – 285.
- VALVERDE, R.A., CORNELIUS, S.E. Y MO, C.L. 1998. Decline of the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*) nesting assemblage at Nancite beach, Santa Rosa National Park, Costa Rica. *Chelonian Conservation Biology*, 3: 58 – 63.
- VAN BREENEN, N. Y FINZI, A.C. 1998. Plant-soil interactions: ecological aspects and evolutionary implications. *Biogeochemistry*, 42:1: 1– 19.
- VERDADE, L.M. 1995. Biologia reprodutiva do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) em São Paulo, Brasil. En: A. Larriera & L. M. Verdade

- (Eds.), Conservación y Manejo de los Crocodylia de America Latina. Vol. 1, Fundación Banco Bica. Santo Tomé, Santa Fe, Argentina, 57-79.
- VERWEIJ, P.E. Y BRANDT, M.E. 2007. *Aspergillus, Fusarium*, and other opportunistic moniliaceous fungi. En: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Pfaller, M.A. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology, 9th ed. Capítulo 121: 1802 – 1838. ASM Press. Washington DC.
- VIETS, B., EWERT, M.A., TALENT, L.G. Y NELSON, C.E. 1994. Sex determining mechanisms in squamate reptiles. Journal of Experimental Zoology, 270: 45 – 56.
- WEBB, G.J.W., MANOLIS, S.C., BUCKWORTH, R. Y SACK, G.C. 1983. An Examination of *Crocodylus porosus* Nests in Two Northern Australian Freshwater Swamps, with an Analysis of Embryo Mortality. Australian Wildlife Research, 10 (3): 571 – 605.
- WHITE, M.M., JAMES, T.Y., O'DONNELL, K., CAFARO, M. J., TANABE, Y. Y SUGIYAMA, J.. 2006. Phylogeny of the Zygomycota based on nuclear ribosomal sequence data. Mycologia, 98 (6): 872-884
- WILLIAMS, C.J., MURRAY, D.L. Y BRAKE, J. 2000. Development of a model to study *Aspergillus fumigatus* proliferation on the air cell membrane of in ovo injected broiler eggs. Poultry Science, 79: 1536 – 1542.
- WOLTER, K. 2004. Multivariate ENSO Index (MEI). /<http://www.cdc.noaa.gov/people/klaus.wolter/MEI/index.html>
- WRIGHT, J.P.Y JONES, C.G. 2006 The concept of organisms as ecosystem engineers ten years. En: Progress, Limitations, and Challenges. BioScience, 56 (3): 203 – 209.

- YANOSKY, A. 1990. Historie naturelle du caïman á museau large (*Caiman latitrostris*), un alligatoriné mal connu. Rev. fr. Aquariol, 17 (1): 19 – 31.
- ZAK, J.C. 1988. Redevelopment of biological activity in strip-mine spoils: saprotrophic fungal assemblages of grass roots. En: Fungi and Ecological Disturbance, L. Boddy, R. Watling y A.J.E. Lyon (Eds.). Proceedings of the Royal Society of Endinburgh, 94B: 73 – 83.
- ZAK, D.R., GRIGAL, D.F., GLEESON, S., TILMAN, D. 1990. Carbon and Nitrogen cycling during old field succession: constraints on plant and microbial biomass. Biogeochemistry, 11: 111 – 129.
- ZAK, J.C. Y WILLIG, M.R. 2004. Fungal Biodiversity Patterns. En: Biodiversity of fungi: Inventory and Monitoring Methods (Eds.). Mueller, G.M.; Bills, G.F. y Foster, M.S. Elsevier Academic Press. Amsterdam, 69 – 70.
- ZHAO, G. Y LIU, X.Z. 2005. A review of *Cirrenalia* (hyphomycetes) and a new species. Fungal Diversity. 18: 201 – 209.
- ZHAO G., XINGZHONG, L. Y WENPING, W. 2007. Helicosporous hyphomycetes from China. Fungal Diversity 26: 313-524.
- Zolan, M.E. 1995. Chromosome-length polymorphism in fungi. Microbiology Review, 59: 686 – 698.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores Dra. Angélica Margarita Arambarri y Dr. Carlos Ignacio Piña, por haberme enseñado y guiado en todo este proceso.

Al Proyecto Yacaré, por brindarme un espacio de trabajo y el acceso a las muestras para realizar esta tesis. Por confiar en mí desempeño.

Al Laboratorio de Ecología Animal (CICyTTP – CONICET, Diamante, Entre Ríos).

A Argelina Blanco torres... horas de skype me (te) hicieron mejor en ecología.

A Marisa Bogner y Zuleica Marchetti por asistirme en campo y en las determinaciones de la flora colectada.

A Romina Brusa... por asistirme en la edición de esta tesis.

A Rafael Ramos (primo Rafa)... por los dibujos que imprimí con orgullo en cada carátula.

Al futuro Dr. Flávio Góis...por años y años de bancarme como inquilina por nada mas que unos buenos mates y mucha risa... Además de trabajo!

A todos los colegas del Instituto de Botánica C. Spegazzini... que colaboraron de diversas maneras.

A Ana... que sería la vida de mis cepas sin vos. Gracias por todo lo que me enseñaste sino nada de lo que hice hubiese sido posible.

A los compañeros de pasillo del CICyTTP – CONICET: Raul Vezzosi, Gabriela Schmidt, Evelyn Vallone y María C. Cuende.

A CONICET por otorgarme las becas que me permitieron 5 años de sufrimiento ininterrumpido y el alquiler de mi dpto. Dicen que la belleza cuesta y agrego: El conocimiento también, en cualquiera de sus estados.

A todos las Micólogas colegas... que contribuyeron a esta tesis de diversas maneras.

Al Ex Director del CICyTTP – CONICET (Dr. Marcelo Cabada) por abrirme las puertas del centro de investigaciones. Al actual Director (Dr. Jorge Noriega) por permitirme desarrollar esta tesis y seguir brindándome un espacio de trabajo.

- **La Informalidad de los Agradecimientos:**

A todos uds. informales de mi vida!

Cleo... por todo el apoyo y las ganas. Por enseñarme y decidir llevarte menos. Por dejarme esta hermosa carga de conocimiento y gusto por lo que aprendí. Por abrirme las puertas de tu casa y hacerme sentir como de la familia.

A mi mama y mi papa... por haberme fabricado desde el desconocimiento. Pero bueno...lo hecho, hecho esta... Gracias por mi vida! Los amo.

A Rouse...te fuiste cuando empecé, no sin antes dejarme como tus últimas palabras nada más que aliento y reconocimiento junto con todo tu amor. Donde quiera que estés...esto es para vos también.

A Virginia...Gracias por toda las buenas energías siempre y el apoyo en todo.

A mi hermanita y mis sobrinos... por desear "que entregue esa cosa que estoy haciendo" así tengo mas tiempo para jugar.

Al resto de la familia que siguió la tesis y las crisis por SMS, WhatsApp y Facebook... siempre acompañaron de alguna manera.

A los amigos de siempre... porque siguen presentes en mi vida compartiendo cada etapa. A los de aquí, el medio y allá.

Al fenómeno Tesis Doctoral...Gracias! Por tantos nuevos amigos, colegas e historias de vida.

Por último y no menos importante...con la informalidad que me caracteriza GRACIAS MI AMOR! Por dejarte ver y dejar de ser proyección. Por existir y revivirme.