



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

Parasitofauna en tortugas dulceacuícolas de Argentina:
La relación parásito-hospedador-ambiente

Ezequiel O. Palumbo

Trabajo de tesis para optar por el título de
Doctor en Ciencias Naturales

DIRECTORES

Julia Inés Díaz
Leandro Alcalde

2022

Índice

Agradecimientos

Resumen	i
Abstract	vi
Introducción	1
Hospedadores, muestreos y metodología aplicada	6
1.1 Caracterización de los hospedadores	7
1.2 Área de estudio	13
1.3 Muestreos	13
1.4 Toma de muestras	17
Diversidad y ecología parasitaria	20
2.1 Introducción	21
2.2 Metodología específica	25
2.2.1 Identificación morfológica	25
2.2.2 Identificación por PCR	26
2.2.3 Análisis filogenético	27
2.2.4 Análisis ecológico	28
2.3 Resultados	31
2.3.1 Diversidad parasitaria	31
2.3.2 Ecología parasitaria	81
2.3.3 Distribución geográfica de las comunidades parásitas	87
2.4 Discusión	92
Variación estacional de parásitos en tortugas de agua dulce: El caso del nematode Hedruris dratini en Hydromedusa tectifera	99
3.1 Introducción	100
3.2 Materiales y Métodos	101
3.2.1 Muestreos y área de estudio	101
3.2.2 Estudio parasitológico	103
3.2.3 Estudio de la dieta	103
3.2.4 Parámetros de la población parasitaria	104
3.2.5 Análisis estadístico	104
3.3 Resultados	105
3.3.1 Relación Parásitos - Tortugas	105
3.3.2 Relación parásitos-anfípodos	108
3.3.3 Dieta de las tortugas	109
3.4 Discusión	112
3.4.1 Dinámica de la población de parásitos	112
3.4.2 Fluctuaciones en la dieta de las tortugas	114
3.4.3 Dinámica del ciclo de vida	115
3.5 Conclusiones	116
Discusión general y conclusiones	117
Bibliografía	121

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores, a la Dra. Julia Inés Diaz por haberme enseñado todo lo que aprendí sobre este hermoso mundo de los parásitos, por su dedicación, paciencia y tiempo, gracias a ella esta tesis fue posible. Al Dr. Leandro Alcalde, por su gran aporte en la colecta de las tortugas, las salidas de campo y por su mirada “herpetológica” de la ciencia. Muchas gracias a ambos.

A mi tercera “directora”, Dra. Graciela Navone, por estar siempre y ayudarme en problemas de cualquier índole que fueron surgiendo, y porque gracias a la posibilidad que me dio pude comenzar a trabajar con este gran grupo de parasitólogos en el CEPAVE. A todos mis compañeros del laboratorio: Guille, Ro, Cailo, Tati, Nati, Agus, Ceci, Bruno, Vicky, Lore, Pao, Andre por toda su buena onda, las charlas y almuerzos compartidos a diario, y en particular a mis amigos de marinos, Bruno, Eli y Sofi, por su amistad y su gran ayuda en todos estos años.

A los jurados de esta tesis Dra. Cynthia Gonzales, Dra. Regina Dragui y a la Dra. Monika Hamann por sus valiosas contribuciones las cuales mejoraron sustancialmente el contenido de la misma.

Al Dr. Guillermo Panisse por acompañarme a muestrear incontables veces y por su ayuda cuando estaba dando mis primeros pasos como pasante en el CEPAVE.

A la Lic. Andrea Servián por enseñarme todo lo que se sobre biología molecular, sin sus aportes no hubiera podido hacer ni una simple PCR.

A la diseñadora Agustina Polari por su ayuda con el diseño de esta tesis.

A la Lic. Graciela Minardi por su ayuda en todos los análisis estadísticos y por todas sus enseñanzas.

A Emilio Topa por la realización de los cortes histológicos, a Patricia Sarmiento por las fotografías en el microscopio electrónico de barrido.

A los técnicos del Laboratorio de Biología Molecular del CEPAVE, Dr. Darío Balcazar y Dra. Marina Ibáñez, por su colaboración con todos los análisis moleculares.

A la Dra. Inés Cesar por ayudarme con la identificación de anfípodos, por prestarme su laboratorio y, sobre todo, por su amistad.

A todos los colegas que me ayudaron consiguiéndome tortugas para esta tesis, lo cual fue de gran ayuda: Dr. Adriana Manzano, Dra. Yanina Prieto, Dr. Martin Montes, Jorge Barneche, Dra. Fabiana Drago, Dr. Alfredo Holley, Lic. María Julia Cassano, Lic. Rocío Sánchez y a la Dra. María Eugenia Pereyra.

Al Centro de estudios Parasitológicos y de Vectores por brindarme el espacio para llevar a cabo este trabajo.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por haberme otorgado la Beca Doctoral para la realización de esta tesis.

A la Universidad Nacional de La Plata por proveer fondos para la realización de este trabajo (N728).

A la compañera de mi vida, Juli, por estar siempre conmigo, creer en mi y ayudarme a mejorar profesional y personalmente. Por hacer que los viajes de campaña y congresos compartidos fueran tan divertidos que no se sintieran como trabajo. Por soportarme todos los días, te amo.

A mi familia, mis padres, los cuales me bancaron todo este tiempo y se preocuparon para que yo estudie y pueda llegar hasta acá. A mi hermana, mi cuñado y mi sobrino, que me ayudaron con cualquier cosa que pude haber necesitado y me bancaron en las malas y en las buenas. Y a mi abuela, que siempre está conmigo.

Al Dr. Raúl Ernesto Campos, "Raulo", a quien iba a pedirle el prólogo para esta tesis, pero demoré demasiado en terminarla y me perdí ese privilegio. Gracias amigo, por todo lo que me enseñaste y todas esas salidas a escalar que me quedarán en el recuerdo.

Y, por último, quiero agradecer a todas las personas del interior del país que siempre me recibieron con una sonrisa y me abrieron las puertas de sus casas para poder buscar tortugas, aún sin conocerme.

Resumen

En Argentina se distribuyen 13 especies de tortugas continentales, de las cuales nueve son dulceacuícolas. Si bien existen registros de endoparásitos para varias de estas especies de tortugas en otras partes de Sudamérica (e.g. Brasil, Uruguay, Paraguay), en Argentina y hasta el comienzo de esta investigación, *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii* eran las únicas especies para las cuales se poseían registros, existiendo un gran vacío de conocimiento sobre su parasitofauna.

En este contexto, el objetivo de este trabajo de tesis fue caracterizar y comparar la fauna parasitaria de las tortugas de agua dulce de Argentina en diferentes áreas de su distribución con el fin de aportar al conocimiento de las relaciones parásito-hospedador-ambiente en este grupo de vertebrados. Se analizó la parasitofauna de siete de las nueve especies de tortugas dulceacuícolas que habitan en Argentina: *Acanthochelys pallidipectoris*, *A. spixii*, *Hydromedusa tectifera*, *Kinosternon scorpioides*, *Phrynops hilarii*, *P. williamsi* y *Trachemys dorbigni*. Se obtuvieron muestras (ejemplares completos, materia fecal y/o regurgitados) de ejemplares procedentes de las provincias de Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Misiones, Salta, Santa Fe, San Luis y Tucumán.

Se describieron morfológicamente 25 taxones parásitos, dos de coccidios (*Cryptosporidium* spp. y *Eimeria* spp.) y 23 de helmintos: una especie de cestode, *Ophiotaenia cohospes* (Proteocephalidae); 11 especies de digeneos, *Atamatum* sp. (*Spirorchiidae*), *Caimanicola brauni* (*Cryptogonimidae*), *Cheloniodiplostomum* sp., *Cheloniodiplostomum argentinense*, *Cheloniodiplostomum testudinis*, *Herpetodiplostomum duboisi* (*Proterodiplostomidae*), *Prionosomoides phrynopsis* (*Echinostomatidae*), *Telorchis birabeni*, *Telorchis devincenzii*, *Telorchis diaphanus* y *Telorchis dubius* (*Telorchidae*); y 11 especies de nematodos, *Camallanus* sp., *Camallanus emydidius*, *Camallanus* n. sp. 1, *Camallanus* n. sp. 2, *Serpinema* sp. (*Camallanidae*), *Falcaustra affinis* (*Kathlaniidae*), *Hedruris dratini*, *Hedruris orestiae* (*Hedruridae*), *Spiroxys contortus* (*Gnathostomatidae*), *Thelandros* sp., *Pharyngodonidae* gen. y sp. indet. (*Pharyngodonidae*). En el caso de *Camallanus* sp., *Camallanus* n. sp. 1, *Hedruris dratini* y *H. orestiae*, también se realizó la caracterización molecular del gen 18S ADNr.

Se analizaron 478 tortugas, de las cuales 436 fueron analizadas a partir de muestras de contenido estomacal y/o materia fecal, y 42 fueron analizadas en su totalidad a partir de

vísceras. Del total de tortugas analizadas, 169 estuvieron parasitadas (P = 35,35%) por un total de 6071 helmintos (IM = 35,9).

El hallazgo de *O. cohospes* representa un nuevo registro geográfico para Argentina en *Hydromedusa tectifera*.

Entre los digeneos, se registra una nueva especie, *C. argentinense*, se establecieron cinco nuevas asociaciones parásito – hospedador: *Atamatum* sp. y *C. testudinis* – *H. tectifera*, *H. duboisi* y *T. birabeni* en *P. williamsi* y *Telorchis diaphanus* – *P. hilarii*, y se reconocieron cinco nuevos registros geográficos para Argentina, *C. testudinis*, *T. devincenzii*, *T. birabeni*, *C. brauni* y *P. phrynopsis*.

Respecto a los nematodos, se describieron tres nuevas especies, *Camallanus* n. sp. 1, *Camallanus* n. sp. 2 y *Hedruris dratini*; y a su vez se registraron cinco nuevas asociaciones parásito – hospedador: *Thelandros* sp. y Pharyngodonidae gen. sp. en *A. pallidipectoris*, *H. orestiae* en *H. tectifera*, Pharyngodonidae gen. sp. en *K. scorpioides* y *Thelandros* sp. en *P. hilarii*. Además, se amplía la distribución geográfica de cinco especies de nematodos: *Camallanus* sp., *C. emydidius*, *F. affinis*, *Serpinema* sp. y *S. contortus*.

Se destaca el registro de *Camallanus* n. sp. 1, *Thelandros* sp. y Pharyngodonidae gen. sp. en *Acanthochelys pallidipectoris*, y de *H. duboisi* y *T. birabeni* en *Phrynops williamsi*, ya que constituyen los primeros registros de parásitos para estas especies de tortugas.

La tortuga que presentó mayor riqueza específica fue *P. hilarii* (12 especies), seguida por *H. tectifera* (7 especies), *T. dorbigni* (4 especies), *A. pallidipectoris*, *K. scorpioides*, *P. williamsi* (2 especies) y *A. spixii* (1 especie).

La especie con mayor distribución hospedatoria en Argentina fue *Spiroxys contortus* hallada en 3 especies hospedadoras.

En relación a la diversidad hallada en las cuatro provincias biogeográficas donde se llevó a cabo este estudio, la mayor riqueza parasitaria se halló en la provincia Pampeana (12 especies: un cestode, siete digeneos y cuatro nematodos), seguida por la provincia Esteros del Iberá (11 especies: seis digeneos y cinco nematodos), la provincia del Chaco (9 especies: un cestode, dos digeneos y seis nematodos), y por último, en la provincia Paranaense se registraron dos especies de digeneos (aunque con solo dos hospedadores analizados).

Con el fin de comprender la relación entre los parásitos, sus hospedadores y el ambiente, se analizó el caso del nematode *H. dratini* parasitando a *H. tectifera* en un arroyo urbano de la provincia de Buenos Aires a lo largo de un año. Se concluyó que la temperatura afecta algunos aspectos del ciclo vital de *H. dratini*, ya que modifica el comportamiento de sus hospedadores. Con el aumento de la temperatura las tortugas se vuelven más activas, se alimenten con mayor frecuencia y por lo tanto consumen más anfípodos parasitados (hospedador intermediario). Si bien, la abundancia de anfípodos infectados aumenta sustancialmente en primavera y verano, la prevalencia de *H. dratini* en los anfípodos continúa siendo elevada en las estaciones frías. En consecuencia, la población de nematodes alcanza un pico durante el verano y disminuye en invierno, pero su prevalencia se mantiene por encima del 40%, lo cual permite una rápida recuperación cuando la temperatura comienza a subir. Estos resultados permiten comprender mejor la dinámica poblacional de este nematode, proporcionando una valiosa información sobre los patrones bióticos y abióticos que afectan a sus distribuciones actuales y futuras.

Se observó que la riqueza parasitaria fue mayor en arroyos prístinos, sin embargo tanto la prevalencia como la abundancia fueron más elevadas en los arroyos disturbados, sugiriendo que la dinámica de las poblaciones parásitas se ve afectada por el impacto humano.

Esta investigación representa una contribución significativa al conocimiento de la parasitofauna de las tortugas de agua dulce en Argentina, incrementando las especies registradas de 4 a 29, siendo así el segundo país de Sudamérica con mayor cantidad de registros de parásitos en tortugas (después de Brasil). La continuidad de estos estudios aportará al conocimiento de la biodiversidad parasitaria en los quelonios de Argentina, y contribuirá a sentar las bases para futuros estudios ecológicos que aborden distintas especies hospedadoras o parásitas. Finalmente, el estudio de los parásitos contribuye al incremento del conocimiento que se tiene acerca de sus hospedadores, especialmente en aquellas especies de tortugas que tienen algún grado de amenaza o que presentan una distribución muy acotada.

Abstract

Thirteen species of continental turtles are distributed in Argentina, nine of which are freshwater turtles. Although there are records of endoparasites for several of these turtle species in other parts of South America (e.g., Brazil, Uruguay, Paraguay), in Argentina and until the beginning of this research, *Hydromedusa tectifera* and *Phrynops hilarii* were the only species for which there were records, and there is a great lack of knowledge about their parasite fauna.

In this context, the objective of this thesis work was to characterize and compare the parasitic fauna of freshwater turtles in Argentina in different areas of their distribution in order to contribute to the knowledge of parasite-host-environment relationships in this group of vertebrates. The parasite fauna of seven of the nine species of freshwater turtles inhabiting Argentina was analyzed: *Acanthochelys pallidipectoris*, *A. spixii*, *Hydromedusa tectifera*, *Kinosternon scorpioides*, *Phrynops hilarii*, *P. williamsi* and *Trachemys dorbignii*. Samples (whole specimens, feces and/or regurgitated) were obtained from specimens from the provinces of Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Misiones, Salta, Santa Fe, San Luis and Tucumán.

Twenty-five parasitic taxa were described morphologically, two of coccidia (*Cryptosporidium* spp. and *Eimeria* spp.) and 23 of helminths: one species of cestode, *Ophiotaenia cohospes* (Proteocephalidae); 11 species of digeneans, *Atamatum* sp. (Spirorchiidae), *Caimanicola brauni* (Cryptogonimidae), *Cheloniodiplostomum* sp., *Cheloniodiplostomum argentinense*, *Cheloniodiplostomum testudinis*, *Herpetodiplostomum duboisi* (Proterodiplostomidae), *Prionosomoides phrynopsis* (Echinostomatidae), *Telorchis birabeni*, *Telorchis devincenzii*, *Telorchis diaphanus* and *Telorchis dubius* (Telorchiidae); and 11 species of nematodes, *Camallanus* sp., *Camallanus emydidius*, *Camallanus* n. sp. 1, *Camallanus* n. sp. 2, *Serpinema* sp. (Camallanidae), *Falcaustra affinis* (Kathlaniidae), *Hedruris dratini*, *Hedruris orestiae* (Hedruridae), *Spiroxys contortus* (Gnathostomatidae), *Thelandros* sp., Pharyngodonidae gen. and sp. indet. (Pharyngodonidae). In the case of *Camallanus* sp., *Camallanus* n. sp. 1, *Hedruris dratini* and *H. orestiae*, molecular characterization of the 18S rDNA gene was also performed.

A total of 478 turtles were analyzed, of which 436 were analyzed from stomach contents and/or fecal samples, and 42 were analyzed entirely from viscera. Of the total number of turtles tested, 169 were parasitized (P = 35.35%) by a total of 6071 helminths (MI = 35.9).

The finding of *O. cohospes* represents a new geographical record for Argentina in *Hydromedusa tectifera*.

Among the digeneans, a new species, *C. argentinense*, was identified; five new parasite-host associations were established: *Atamatam* sp. and *C. testudinis* - *H. tectifera*, *H. duboisi* and *T. birabeni* - *P. williamsi*, and *Telorchis diaphanus* - *P. hilarii*; and finally, five new geographical records were recognized for Argentina, *C. testudinis*, *T. devincenzii*, *T. birabeni*, *C. brauni* and *P. phrynopsis*.

Regarding to nematodes, three new species were described, *Camallanus* n. sp. 1, *Camallanus* n. sp. 2 and *Hedruris dratini*; and five new parasite-host associations were recorded: *Thelandros* sp. and Pharyngodonidae gen. sp. - *A. pallidipectoris*, *H. orestiae* - *H. tectifera*, Pharyngodonidae gen. sp. - *K. scorpioides* and *Thelandros* sp. - *P. hilarii*. In addition, the geographical distribution of five nematode species was extended: *Camallanus* sp., *C. emydidius*, *F. affinis*, *Serpinema* sp. y *S. contortus*.

The record of *Camallanus* n. sp. 1, *Thelandros* sp. and Pharyngodonidae gen. sp. in *Acanthochelys pallidipectoris*, and of *H. duboisi* and *T. birabeni* in *Phrynops williamsi* is noteworthy, as these are the first records of parasites for these turtle species.

The turtle with the highest specific richness was *P. hilarii* (12 species), followed by *H. tectifera* (7 species), *T. dorbigni* (4 species), *A. pallidipectoris*, *K. scorpioides*, *P. williamsi* (2 species) and *A. spixii* (1 species).

The species with the widest host distribution in Argentina was *Spiroxys contortus* found in 3 host species.

In relation to the diversity found in the four biogeographic provinces where this study was carried out, the greatest parasitic richness was found in the Pampean province (12 species: one cestode, seven digeneans and four nematodes), followed by the Esteros del Iberá province (11 species: one cestode, seven digeneans and four nematodes), the Chaco province (9 species: one cestode, two digeneans and six nematodes), and finally, in the Paranaense province two species of digeneans were recorded (although with only two hosts analyzed).

In order to understand the relationship between parasites, their hosts and the environment, the case of the nematode *H. dratini* parasitizing *H. tectifera* in an urban stream in the province of Buenos Aires was analyzed over the course of a year. It was

concluded that temperature affects some aspects of the life cycle of *H. dratini*, since it modifies the behavior of its hosts. With increasing temperature, turtles become more active, feed more frequently and therefore consume more parasitized amphipods (intermediate host). While the abundance of infected amphipods increases substantially in spring and summer, the prevalence of *H. dratini* in amphipods remains high in the cooler seasons. Consequently, the nematode population peaks during the summer and decreases in winter, but its prevalence remains above 40%, allowing for a rapid recovery when the temperature begins to rise. These results allow a better understanding of the population dynamics of this nematode, providing valuable information on the biotic and abiotic patterns that affect their current and future distributions.

Parasite richness was higher in pristine streams, however both prevalence and abundance were higher in disturbed streams, suggesting that parasite population dynamics are affected by human impact.

This research represents a significant contribution to the knowledge of the parasite fauna of freshwater turtles in Argentina, increasing the number of species recorded from 4 to 29, making it the second country in South America with the highest number of records of parasites in turtles (after Brazil). The continuity of these studies will contribute to the knowledge of parasitic biodiversity in the chelonians of Argentina, and will contribute to lay the foundations for future ecological studies that address different host or parasitic species. Finally, the study of parasites contributes to the increase of knowledge about their hosts, especially in those turtle species that are under some degree of threat or have a very limited distribution.

Introducción



Introducción

¿Por qué es importante describir especies?

La definición de “especie” es una temática controversial que data desde hace tiempo. En función de la disciplina (e.g. ecología, paleontología, genética, etc.), cambia la interpretación del significado que se le da a una especie, resultando difícil establecer un único criterio para su definición (Mayr 1996; Queiroz 2005, 2007). El concepto comúnmente utilizado de “especie biológica” es aquel descrito por Mayr (1942), el cual define a las especies como “grupos de poblaciones naturales que se entrecruzan real o potencialmente, y que están aisladas desde el punto de vista reproductivo de otros grupos similares”.

La descripción y delimitación de especies es una herramienta fundamental para quienes se proponen resolver hipótesis relacionadas con una gran variedad de tópicos de las ciencias naturales, entre ellos, la caracterización y distinción de hábitats y el rastreo del progreso de la biodiversidad sobre la tierra (Noriega *et al.* 2015). Una vez identificadas las especies, se pueden llevar a cabo estudios más detallados, como, por ejemplo, de evolución y filogenia, análisis de poblaciones y comunidades, estudios biogeográficos, etc. Disponer de una lista estandarizada de nombres de especies es esencial para garantizar la calidad en las ciencias biológicas, el conocimiento y conservación de los ecosistemas y, la gestión de los recursos naturales (Costello *et al.* 2013).

A pesar de estas consideraciones, la labor taxonómica y sistemática de los investigadores es muchas veces subestimada, conduciendo a esta rama de la ciencia hacia una profunda crisis. Es notoria la disminución en la cantidad de investigadores con experticia abocados a la descripción de la biodiversidad, en gran parte esto es debido a los altos costos invertidos en tiempo y esfuerzo y el escaso reconocimiento por parte de la propia comunidad científica (Noriega *et al.* 2015; Villaseñor 2015). Se infiere que dicha crisis taxonómica se encuentra estrechamente vinculada con la crisis a nivel global de la biodiversidad (Carvalho *et al.* 2005; Evenhuis 2007; Schweitzer 2008; Villaseñor 2015).

Históricamente, el rol de los parásitos en el funcionamiento de los ecosistemas ha sido considerado trivial ya que representan una biomasa relativamente baja en comparación con la de otros grupos tróficos (Hudson *et al.* 2006). Sin embargo, cada vez existen más pruebas que demuestran los efectos significativos de los parásitos sobre los ecosistemas, puesto que pueden afectar la dinámica de la población hospedadora, alterar la competencia interespecífica, e influir en el flujo de energía, entre otros aspectos. Los parásitos son importantes impulsores

de la diversidad biológica, interviniendo en las funciones de los ecosistemas y en las estructuras de las redes alimentarias (Hudson *et al.* 2002; Wood & Johnson 2015).

Actualmente existen alrededor de 1,8 millones de especies descritas dentro del dominio Eukarya (Roskov *et al.* 2019), pero se estima que restan por describir alrededor de 500 mil especies (Costello *et al.* 2012). En lo que respecta a los parásitos, hay alrededor de 300.000 especies reportadas para vertebrados (Dobson *et al.* 2008), siendo las especies de anfibios y reptiles las menos conocidas (Carlson *et al.* 2020). Por esta razón, la demanda de estudios taxonómicos está en aumento, especialmente en el hemisferio sur, en donde la biodiversidad es muy abundante (Carvalho *et al.* 2005).

¿Qué es un parásito?

De acuerdo con Clayton & Moore (1997) y Poulin (2011) un parásito es todo organismo que vive dentro (endoparásito) o sobre (ectoparásito) otro organismo (el hospedador), mostrando algún grado de adaptación estructural para ello, y cuya presencia impacta de alguna forma sobre el hospedador, pudiendo reducir la fecundidad, causar enfermedades e incluso ocasionar la muerte. El organismo dentro del cual los parásitos alcanzan su madurez sexual, se denomina hospedador definitivo (HD). Ciertos parásitos solo requieren un hospedador para completar su ciclo de vida (directo), mientras que otros necesitan uno o más hospedadores intermediarios (HI) para desarrollarse, denominándose ciclos de vida indirectos (Bush *et al.* 2001).

Los ciclos de vida ocurren dentro de una red compleja de interacciones ecológicas en la cual los parásitos y sus hospedadores co-evolucionan, modificando el comportamiento uno en función del otro (Parker *et al.* 2003; Morand *et al.* 2006). Muchos parásitos dependen de las interacciones tróficas para su transmisión, de esta forma, la diversidad en la dieta del hospedador influye sobre la riqueza y abundancia de los parásitos que presenta. La dieta de las tortugas es más diversa en ambientes prístinos (e.g. Bonino *et al.* 2009; Alcalde *et al.* 2010), donde hay una mayor diversidad de macroinvertebrados (Ferreira *et al.* 2014), que en aquellos ambientes más antropizados, donde aquellas especies menos tolerantes a los estresores ambientales no se registran (Klemm *et al.* 2003; Ferreira *et al.* 2011). Por otra parte, la distribución geográfica de cada especie hospedadora ésta relacionada directamente a la diversidad parasitaria que presente: una especie con mayor rango de distribución supone una riqueza parasitaria superior que aquella que presente una distribución más acotada (Poulin & Morand 2004).

¿Qué tortugas habitan en Argentina y cuál es su parasitofauna?

Las tortugas son un grupo reducido de Reptiles pertenecientes al Orden Testudines, representadas por 356 especies, agrupadas en dos taxones: el Suborden Cryptodira, el cual reúne a tortugas tanto terrestres, marinas como dulceacuícolas; y el Suborden Pleurodira, representado solo por tortugas de agua dulce (Rhodin *et al.* 2018). En Argentina se distribuyen 13 especies de tortugas continentales, de las cuales nueve son dulceacuícolas y se agrupan en tres familias. La más numerosa es la familia Chelidae (Pleurodira) representada por: *Acanthochelys pallidipectoris* (Freiberg, 1945), *A. spixii* (Duméril & Bibron, 1835), *Hydromedusa tectifera* Cope, 1870, *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron, 1835), *P. geoffroanus* (Schweigger, 1812), *P. williamsi* Rhodin & Mittermeier, 1983 y *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973). Por el contrario, las familias Kinosternidae (Cryptodira) y Emydidae (Cryptodira) están representadas por una única especie cada una, *Kinosternon scorpioides* (L.) y *Trachemys dorbigni* (Duméril & Bibron, 1835) respectivamente (Prado *et al.* 2012).

Si bien existen registros de endoparásitos para varias de estas especies de tortugas en otras partes de Sudamérica (Mañé-Garzón & Gil 1961; Ibañez & Córdova 1976; Mascarenhas *et al.* 2013; Bernardon *et al.* 2014; Pereira *et al.* 2018), en Argentina y hasta el comienzo de esta investigación, *H. tectifera* y *P. hilarii* son las únicas especies para las cuales se conocen parásitos: nematodos sin identificar registrados para *H. tectifera* y cuatro digeneos para *P. hilarii* (Lombardero & Moriena 1977; Alcalde *et al.* 2010). Motivo por el cual es evidente la falta de estudios taxonómicos sobre la diversidad parasitaria en tortugas de agua dulce en Argentina.

En este contexto, se plantean las siguientes preguntas problema que se tuvieron en cuenta al abordar este estudio:

¿Qué especies parasitan a las tortugas de agua dulce en Argentina?

¿Existen variaciones en la comunidad de parásitos a lo largo de la distribución de cada especie hospedadora?

Las tortugas que comparten su distribución, ¿también comparten sus especies parásitas?

¿La alimentación del hospedador influye en su diversidad parasitaria?

Los ambientes disturbados por el hombre, ¿alteran la carga parasitaria de las tortugas?

¿Los cambios estacionales influyen sobre la parasitofauna de las tortugas?

Hipótesis

La diversidad de parásitos de las tortugas dulceacuícolas de Argentina se encuentra subestimada. El uso diferencial de ambientes (espacial y temporal) por parte de los hospedadores se refleja en la composición, diversidad y estructura de las comunidades parasitarias.

Predicciones

A partir de este trabajo, se espera dar a conocer nuevas especies parásitas y ampliar el registro hospedatorio y/o geográfico de otras. Se espera que las comunidades de helmintos más ricas y diversas sean aquellas procedentes de hospedadores que frecuenten mayor variedad de ambientes y a la vez menos disturbados por factores antrópicos. Teniendo en cuenta los cambios conductuales estacionales de los hospedadores, se espera que las poblaciones parásitas presenten variaciones a lo largo del año.

Objetivo general

Caracterizar y comparar la fauna parasitaria de las tortugas de agua dulce de Argentina en diferentes áreas de su distribución con el fin de aportar al conocimiento de las relaciones parásito-hospedador-ambiente en este grupo de vertebrados.

Objetivos específicos

- ◆ Identificar las especies parásitas presentes en las diferentes especies de tortuga de agua dulce de Argentina, ampliando su conocimiento mediante la descripción y redescrición de taxones.
- ◆ Caracterizar las poblaciones y comunidades parásitas mediante índices ecológicos, con el fin de comparar entre regiones biogeográficas y/o hospedadores.
- ◆ Describir la dieta de *Hydromedusa tectifera* en diferentes áreas y analizar la relación de la misma con su fauna parasitaria.
- ◆ Analizar la influencia del ambiente sobre diferentes aspectos de la parasitofauna de las poblaciones hospedadoras y determinar que variables (intrínsecas y extrínsecas) son las más influyentes.

Capítulo 1



Hospedadores, muestreos y metodología aplicada

1.1 Caracterización de los hospedadores

1.2 Área de estudio

1.3 Muestreos

1.4 Toma de muestras

Hospedadores, muestreos y metodología aplicada

1.1 Caracterización de los hospedadores

En Argentina habitan nueve especies de tortugas de agua dulce, siete pertenecientes a la familia Chelidae, y una a la familia Kinosternidae y Emydidae respectivamente (Prado *et al.* 2012).

Orden Testudines Batsch, 1788

Sub Orden Pleurodira Cope, 1865

Familia Chelidae Gray, 1831

Acanthochelys Gray, 1873

Acanthochelys pallidipectoris (Freiberg, 1945) (Fig. 1).

La tortuga canaleta chaqueña se distribuye en la Región Chaqueña de Argentina, Paraguay y Bolivia. En Argentina es posible encontrarla en las provincias de Chaco, Formosa, Salta y Santa Fe (Rhodin *et al.* 2017; Sánchez *et al.* 2019). Los adultos son de pequeño tamaño (longitud recta del caparazón (LRC) 175 mm aproximadamente) y poseen un canal longitudinal en su espaldar. Esta especie se caracteriza por la presencia de tubérculos córneos en la región posterior de los miembros traseros. Se la puede encontrar en charcas dentro del monte chaqueño, entre las cuales se desplaza activamente buscando alimento. Es de hábitos carnívoros, su dieta se compone principalmente de renacuajos, insectos y pequeños organismos de la superficie. Esta especie está activa solo en la época de lluvias, la cual abarca tres o cuatro meses en el año, por lo que se dificulta mucho su avistamiento (Richard 1999; Bonin *et al.* 2006). Respecto al estado de conservación en nuestro país y a nivel internacional, la tortuga canaleta chaqueña está categorizada como “Amenazada” (Prado *et al.* 2012; Vinke & Vinke 2016).



Figura 1: *Acanthochelys pallidipectoris*.

Acanthochelys spixii (Duméril & Bibron, 1835) (Fig. 2)

En Argentina, la tortuga canaleta mesopotámica se distribuye en la región del Chaco Húmedo en su porción oriental al Río Paraná en la provincia de Corrientes, como también en diversos biomas de Brasil y Uruguay (Rhodin *et al.* 2017; Sánchez *et al.* 2019). Es la especie más pequeña del género (LRC 170 mm de aproximadamente) y se caracteriza por su cuello espinoso. Habita zonas inundables y de pequeñas lagunas en las cuales se alimenta de caracoles, renacuajos y también, accidentalmente, de pequeñas plantas (Brasil *et al.* 2011; Bager *et al.* 2016). Son tortugas solitarias y con números poblacionales aparentemente bajos. A nivel local se encuentra categorizada como “En Peligro” y a nivel global como “No Amenazada” (Prado *et al.* 2012; Vinke & Vinke 2016).



Figura 2: *Acanthochelys spixii*. Crédito: Noelia (tomado de iNaturalist).

Hydromedusa Wagler, 1830

Hydromedusa tectifera Cope, 1870 (Fig. 3)

La tortuga cuello de serpiente se distribuye en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. En Argentina se encuentra en gran parte de la región Pampeana, específicamente en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Misiones, Salta, San Luis y Santiago del Estero (Sánchez *et al.* 2019). Los adultos alcanzan un tamaño mediano (300 mm de LRC aproximadamente), se caracterizan por poseer un caparazón ovoide con protuberancias dirigidas hacia atrás, particularmente marcadas en ejemplares juveniles (Cabrera 1998). Habitan gran diversidad de cuerpos de agua donde pasan la mayor parte de su tiempo alimentándose principalmente de artrópodos (Bonino *et al.* 2009; Alcalde *et al.* 2010). Esta tortuga no se encuentra bajo ningún grado de amenaza tanto a nivel local como internacional (Prado *et al.* 2012).



Figura 3: *Hydromedusa tectifera*.

Mesoclemmys Gray, 1873

Mesoclemmys vanderhaegei (Bour, 1973) (Fig. 4)

La tortuga cabeza de sapo se distribuye en Argentina, Brasil y Paraguay. En Argentina se pueden encontrar poblaciones en las regiones de Esteros del Iberá y Paranaense, en las provincias de Corrientes y Misiones (Yanosky *et al.* 2000; Cabrera & Böhn 2015; Cassano 2017; Rhodin *et al.* 2017). Son de tamaño mediano (250 mm de LRC aproximadamente), poseen caparazón ovalado de color oscuro y cabeza grande. Habita lagunas, zonas bajas inundables y arroyos con bastante vegetación asociada, siendo su dieta mayormente carnívora (Vinke *et al.* 2013; Brito *et al.* 2016, 2018). Debido a lo escaso de su distribución en Argentina y a la degradación de su ambiente es difícil encontrarla en su hábitat natural. En Argentina la especie está categorizada como “Insuficientemente Conocida” (Prado *et al.* 2012) y como “No Amenazada” a nivel internacional (IUCN 1996).



Figura 4: *Mesoclemmys vanderhaegei*. Crédito: Marques *et al.* 2013.

Phrynops Wagler, 1830

Phrynops hilarii (Duméril & Bibron, 1835) (Fig. 5)

La tortuga de laguna se distribuye en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. En Argentina tiene una amplia distribución con registros en Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Mendoza, Salta, San Juan, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán (Sánchez *et al.* 2019). Son tortugas de tamaño mediano-grande (pudiendo alcanzar los 400 mm de LRC), con caparazón oval liso de color gris oscuro con ocelos negros marginales. La coloración ventral presenta manchas negras de forma y número variables, sobre un fondo crema (Cabrera & Colantonio 2001). Se puede encontrar en toda clase de cuerpos de agua y es muy común su avistamiento cuando asolean fuera del agua, muchas veces comunitariamente. Son principalmente carnívoras y pueden llegar a comer presas de gran tamaño como peces, mamíferos o aves (Molina *et al.* 1998; Alcalde *et al.* 2010; Semeñiuk & Alcalde 2017). No se encuentra bajo ningún grado de amenaza tanto a nivel local como internacional (Prado *et al.* 2012).



Figura 5: *Phrynops hilarii*.

Phrynops geoffroanus (Schweigger, 1812) (Fig. 6)

La tortuga de Geoffroy se distribuye desde Argentina hasta el norte de Sudamérica. En Argentina se la puede encontrar en las regiones de Esteros del Iberá y Paranaense, en las provincias de Corrientes y Misiones (Iverson 1992; Baldo *et al.* 2007; Cajade *et al.* 2014; Rhodin *et al.* 2017). Los adultos son de tamaño mediano (350 mm de LRC aproximadamente) y se caracterizan por tener caparazón ovalado con su porción ventral de color pardo oscuro con manchas variables. Habita tanto cuerpos de agua lóticos como lénticos y suelen asolearse sobre rocas y troncos. Es una especie principalmente carnívora, aunque puede consumir ocasionalmente plantas (Souza & Abe 2000; Martins

et al. 2010; Rodríguez *et al.* 2019). La especie está categorizada como “Insuficientemente Conocida” para Argentina y a nivel internacional no está categorizada (Prado *et al.* 2012).



Figura 6: *Phrynops geoffroanus*. Crédito: Eden Fontes (tomado de iNaturalist).

Phrynops williamsi Rhodin & Mittermeier, 1983 (Fig. 7)

La tortuga herradura se distribuye en Brasil, Paraguay, Uruguay y, en Argentina se la registró en las regiones de Esteros del Iberá y Paranaense, en las provincias de Corrientes y Misiones (Iverson 1992; Spier *et al.* 2014; Borteiro *et al.* 2015; Rhodin *et al.* 2017; Kunz *et al.* 2018). Los adultos alcanzan un tamaño mediano (300 mm de LRC aproximadamente), se caracterizan por tener caparazón oval de color gris claro y una cabeza colorida característica, la cual dorsalmente es negra y ventralmente posee líneas blancas y negras. La parte ventral del caparazón, a diferencia de las otras especies del género, no tiene manchas negras. Se las puede encontrar en ríos de corrientes rápidas asoleándose sobre rocas o troncos. Son principalmente carnívoras (Cabrera 1998; Kunz *et al.* 2018). Su estado de conservación esta categorizado como “Vulnerable” tanto en Argentina como a nivel internacional (Prado *et al.* 2012; Rhodin *et al.* 2018).



Figura 7: *Phrynops williamsi*. Crédito: Sebastián Lescano (tomado de iNaturalist).

Sub Orden Cryptodira Cope, 1868

Familia Kinosternidae Agassiz, 1857

Kinosternon Spix, 1824

Kinosternon scorpioides (Linnaeus, 1766) (Fig. 8)

La tortuga casquito se registra desde el sur de México hasta Argentina, en donde se la encuentra en las regiones Chaqueña y Yungas, específicamente en las provincias de Chaco, Formosa, Jujuy y Salta (Rhodin *et al.* 2017). Son tortugas de pequeño tamaño (200 mm de LRC aproximadamente) caracterizadas por tener tres quillas en el espaldar y en el peto dos charnelas móviles que les permiten cerrar el caparazón. En nuestra región se suelen encontrar en ambientes temporarios y semipermanentes. Consume tanto peces, como caracoles y plantas (Berry & Iverson 2011). En Argentina esta categorizada como “Insuficientemente Conocida” y a nivel internacional no está evaluada (Prado *et al.* 2012).



Figura 8: *Kinosternon scorpioides*. Crédito: María Julia Cassano.

Familia Emydidae Rafinesque, 1815

Trachemys Agassiz, 1857

Trachemys dorbigni (Duméril & Bibron, 1835) (Fig. 9)

La tortuga pintada se distribuye en Brasil, Uruguay y Argentina, en este último país se la puede encontrar en las regiones de la Pampa Húmeda, Espinal y en Delta e islas del Paraná, principalmente en las provincias de Buenos Aires, Chaco, Córdoba (introducida), Corrientes, Entre Ríos y Santa Fe (Sánchez *et al.* 2019). Son tortugas de tamaño mediano (250 mm de LRC aproximadamente) que se caracterizan por su intensa coloración. Habitan aguas de corriente lenta con abundante vegetación y suelen salir del agua a asolearse, siendo sencilla su observación. Los juveniles son mayormente carnívoros y los adultos cambian la dieta a omnívoros con tendencia a la herbivoría

(Fagundes *et al.* 2010; Bujes *et al.* 2011; Hahn *et al.* 2013). En Argentina esta especie esta categorizada como “Vulnerable” y a nivel global no está evaluada (Prado *et al.* 2012).



Figura 9: *Trachemys dorbignii*.

1.2 Área de estudio

Como se desprende del apartado anterior, las tortugas de agua dulce en Argentina se distribuyen en una porción amplia del territorio, abarcando cuencas de las provincias en el norte, centro y este del país (Cabrera 1998; Derocco *et al.* 2005; Alcalde *et al.* 2012; Di Pietro *et al.* 2012; Prado *et al.* 2012; Sánchez *et al.* 2019). Por lo tanto, en términos biogeográficos, y siguiendo el criterio de clasificación de Arana *et al.* (2021), el área principal de estudio (Fig. 10) de esta tesis abarca la Subregión Chaqueña, en la cual se reconocen dos Dominios: Paranaense, que comprende a las provincias biogeográficas Bosque de Araucaria, Esteros del Iberá y Paranaense; y Chaqueño, que se divide en las provincias biogeográficas Chaco y Pampeana.

1.3 Muestreos

Se realizaron seis campañas de muestreo dentro de la Subregión Chaqueña, las cuales estuvieron distribuidas de la siguiente manera:

Provincia biogeográfica del Chaco

- Formosa 2017: En el mes de julio se muestreó en una estancia de 8000 hectáreas al oeste de la localidad de El Colorado, perteneciente al Chaco Húmedo.
- Formosa y Salta 2017: A fines de noviembre se recorrieron varias localidades del Chaco Seco salteño.

- Chaco – Formosa – Santa Fe 2019: En el mes de enero se muestreó al este de Chaco y Formosa y en el norte de Santa Fe, lo que abarcó gran parte del Chaco Húmedo.
- Chaco y Formosa 2020: Entre febrero y marzo se recorrió gran parte del Chaco Seco y parte del Chaco Húmedo.

Provincia biogeográfica Pampeana

- Buenos Aires 2016-2019: Se realizaron muestreos constantes a lo largo de los primeros cuatro años de la tesis.

Provincia biogeográfica Esteros del Iberá

- Corrientes y Misiones 2016: La campaña se realizó en primavera, con una duración de 10 días.

A partir de los muestreos y de material adicional procedente de colecciones de museos y otras instituciones científicas, se obtuvieron dos tipos de muestras: 1-Ejemplares completos y 2-Regurgitados y/o heces. Las localidades muestreadas se detallan en la Tabla 1 y en la Figura 10.

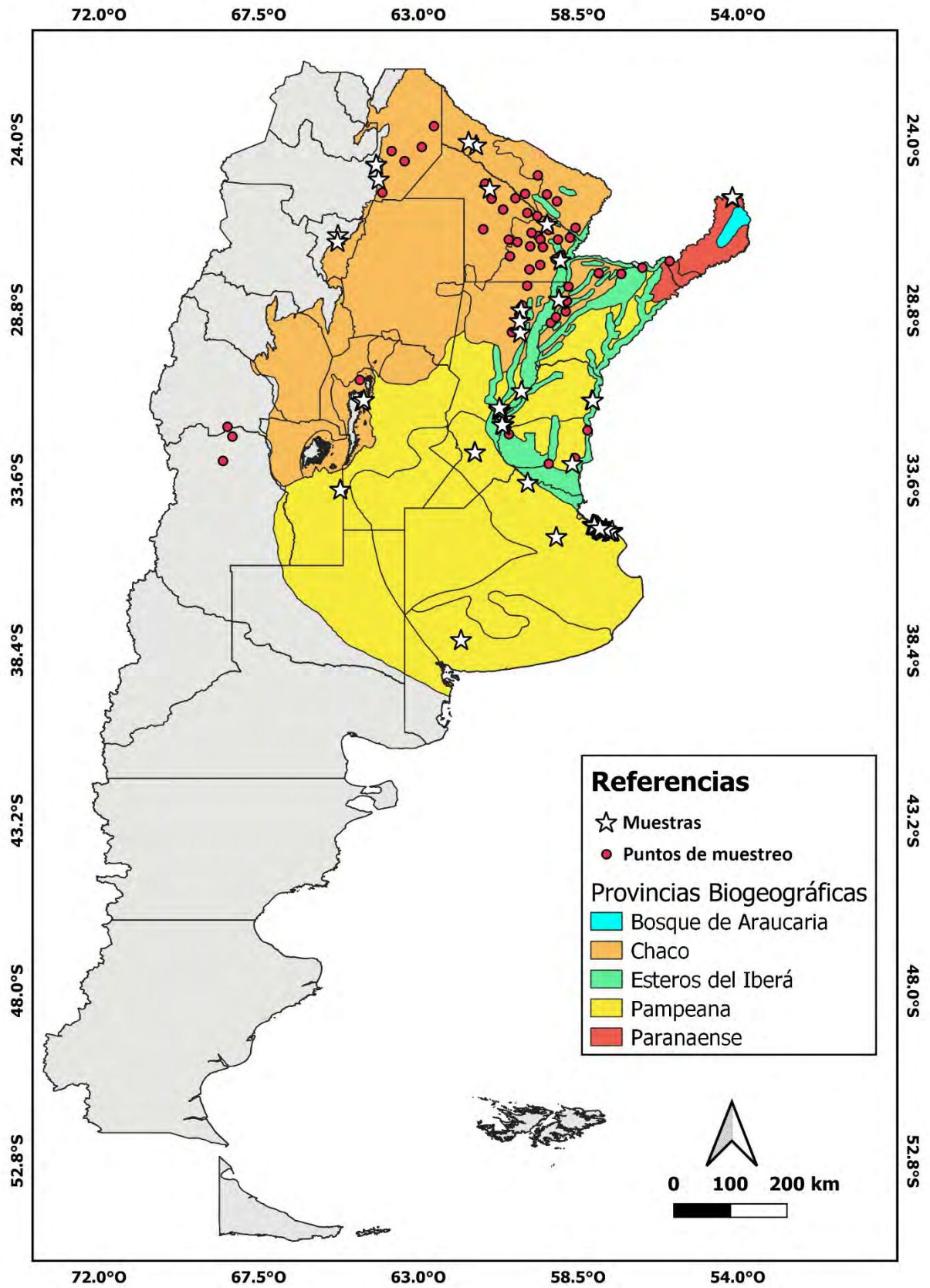


Figura 10: Área de estudio, muestreos realizados y muestras obtenidas.

Tabla 1: Lista de material estudiado, discriminando entre ejemplares completos y muestras de regurgitados y materia fecal.

EJEMPLARES COMPLETOS			
Hospedador	Localidad	Fecha	Cantidad
<i>A. pallidipectoris</i>	Vera, Santa Fe	2019	1
<i>A. spixii</i>	Bella Vista, Corrientes ^α	1980	1
<i>H. tectifera</i>	A° Maldonado, Buenos Aires ^α	2011	1
	A° Martin, Buenos Aires	2017	1
	A° Rodriguez, Buenos Aires	2017-2019	4
	A° El Gato, Buenos Aires	2018	1
	A° Buñirigo, Buenos Aires	2014 - 2016	2
	Norte Buenos Aires	1982	1
	Lobos, Buenos Aires	2019	1
	Tanti, Córdoba	2020	1
<i>K. scorpioides</i>	Formosa	1982	1
<i>P. hilarii</i>	Diamante, Entre Ríos ^γ	2011	5
	A° Buñirigo, Buenos Aires	2014-2016	2
	Tucumán ^δ	2015	2
	Bella Vista, Corrientes	2016	1
	Vera, Santa Fe	2016	1
	Santa Fe, Santa Fe ^γ	2017	4
	La Plata, Buenos Aires	2017	1
	Arana, Buenos Aires	2018	1
	A° El Gato, Buenos Aires	2018	1
	Saladas, Corrientes	2019	1
	A° El Sauce, Entre Ríos	2019	1
	A° Salto, Entre Ríos	2019	1
	Helvecia, Santa Fe ^γ	2019	1
<i>P. williamsi</i>	Cmte. Andresito, Misiones ^ε	2021	2
<i>T. dorbigni</i>	A° El Pescado, Buenos Aires	2017	1
	Concordia, Entre Ríos	1986	2
MUESTRAS DE REGURGITADOS Y MATERIA FECAL			
<i>A. pallidipectoris</i>	Vera, Santa Fe	2016-2017	11
	Salta	2018	50
	Salta	2019	13
	Vera, Santa Fe	2019	10
<i>H. tectifera</i>	Toro Viejo, Córdoba ^β	2008	68
	Tanti, Córdoba ^β	2008	86
	A° Buñirigo, Buenos Aires	2008	47
	A° Carnaval, Buenos Aires	2011-2017	27
	A° Tubichamini, Buenos Aires	2011-2018	32
	A° Zapata, Buenos Aires	2013	28
	A° El Gato, Buenos Aires	2013-2018	25
	San Luis	2014	3
	A° Buñirigo, Buenos Aires	2014-2016	2
	A° Cajaravilla, Buenos Aires	2018	6
	Sierra de la Ventana, Buenos Aires	2018	12
	A° Rodriguez, Buenos Aires	2018	160
<i>K. scorpioides</i>	Salta	2018	8
	Formosa	2019	5
	Chaco	2020	8
<i>P. hilarii</i>	A° Buñirigo, Buenos Aires	2005-2018	98
	A° Tubichamini, Buenos Aires	2011-2015	19
	A° Zapata, Buenos Aires	2011-2015	34
	A° El Gato, Buenos Aires	2013	6
	A° Cajaravilla, Buenos Aires	2018	4
	Chaco	2020	2

El superíndice indica la procedencia del material adicional. ^α Museo de La Plata. ^β Bonino *et al.* 2009. ^γ Centro de Investigaciones Científicas y Transferencia de Tecnología a la Producción (Yanina Prieto) ^δ Alfredo Holley. ^ε A. Solari, G. Reig y M. Montes.

1.4 Toma de muestras

Métodos de captura de hospedadores

Para el muestreo de tortugas se emplearon métodos de captura viva que fueron utilizados exitosamente en trabajos previos (Lescano *et al.* 2008; Alcalde *et al.* 2010; Semeñiuk *et al.* 2017). A continuación, se detalla cada uno de ellos:

- ◆ Captura manual (detección visual y palpado): Este método consiste en barrer los márgenes y el fondo del cuerpo de agua con las manos para la búsqueda de las tortugas. El palpado se aplicó en arroyos y en charcas temporarias poco profundas (30 cm máximo). La detección visual se utilizó en arroyos cuya profundidad y turbidez lo permitieron.
- ◆ Espineles sin anzuelo: Están compuestos por una línea central (cabo de 3mm) de 5 a 10 metros de largo, con una bajada cada 50 cm con carne vacuna como carnada. Este método se utilizó en la mayoría de los arroyos y cuerpos de agua, donde por su profundidad y turbidez no fueron posibles el palpado y la detección visual (Semeñiuk *et al.* 2017).
- ◆ Redes de arrastre: Se utilizaron en cuerpos de agua poco profundos (60 cm máximo) y con moderada o nula vegetación. Esta técnica permite capturar las tortugas abarcando una mayor área en un menor tiempo (Semeñiuk *et al.* 2017).
- ◆ Trampas Garlito: Son trampas embudo que se utilizaron complementariamente en los mismos tipos de ambiente que los espineles sin anzuelo (Semeñiuk *et al.* 2017).

Procesamiento de los hospedadores

- ◆ Luego de ser capturada cada tortuga se mantuvo en un recipiente con agua mientras se le tomaban las muestras correspondientes. Luego del procesamiento, cada tortuga fue liberada en el lugar donde fue colectada.
- ◆ Se registraron: especie, sexo, peso y longitud recta del caparazón (LRC) de cada tortuga.
- ◆ El sexo fue determinado por los rasgos dimórficos de la especie, mientras que en los juveniles se determinó, cuando fue posible, por verificación directa de pene en la cloaca (Rodríguez *et al.* 2014).
- ◆ La obtención de muestras de contenido estomacal se realizó mediante la técnica de lavaje de estómago (*flushing*) descrita por Legler (1977) con las modificaciones aplicadas por Alcalde *et al.* (2010).

- ◆ La materia fecal se obtuvo de dos formas diferentes: recolección directa, ya que cuando se las manipula las tortugas suelen defecar, y también a partir del recipiente donde se las contiene mientras se toman las muestras (cuando fue posible, se las mantuvo 24hs para que defequen). El agua del recipiente se filtró para obtener las muestras.
- ◆ Para evitar el doble conteo de especímenes por sitio de muestreo, cada tortuga se identificó individualmente con una marca en el caparazón (según Cagle 1939).
- ◆ Los contenidos estomacales y la materia fecal se conservaron en etanol 70%. Algunas submuestras de materia fecal fueron conservadas en Dicromato de Potasio, con el fin de registrar coccidios por esporulación a partir de su cultivo en estufa a 30 °C.
- ◆ En algunos cuerpos de agua donde se colectaron ejemplares de *H. tectifera*, se realizaron 15 pasadas de un copo de mano de boca redonda (30 cm diámetro, 15 cm copo, malla 1 mm) para obtener muestras de oferta alimenticia (e.g. artrópodos acuáticos, moluscos, peces, etc.). Los ítems se conservaron en etanol 70%.
- ◆ Los hospedadores obtenidos a partir de colecciones o hallados muertos en el campo (en general atropellados en ruta) fueron trasladados con refrigeración para su evisceración en laboratorio. Cada órgano fue examinado en busca de lesiones externas, extirpado y colocado por separado en una bolsa tipo “Ziploc” con etanol 70% para su posterior procesamiento. Las cavidades y los músculos se analizaron en búsqueda de parásitos.

Procesamiento de las muestras

- ◆ Los ítems de la oferta alimenticia, los regurgitados y la materia fecal fueron analizados utilizando un microscopio estereoscópico. Los mismos fueron cuantificados y determinados a la menor categoría taxonómica posible. Los parásitos hallados fueron colectados y conservados en etanol 70%.
- ◆ Se realizaron dos test coproparasitológicos con la materia fecal conservada en dicromato de potasio (1 mes de reposo en estufa): la técnica de sedimentación formol-éter (modificada por Ritchie 1948), y la de flotación con solución de azúcar de Sheather (Schaible & Kaufmann 2007). Los preparados fueron observados bajo el microscopio óptico en busca de ooquistes y huevos de helmintos.
- ◆ Las vísceras se analizaron bajo el microscopio estereoscópico en busca de endoparásitos. Los parásitos hallados se conservaron en etanol 70 % para su posterior estudio taxonómico.

◆ Los mapas que muestran las distribuciones de las tortugas y sus parásitos se realizaron con el programa Qgis3 v 3.16.7.

Análisis de los arroyos

◆ Los arroyos de la región Pampeana se clasificaron en muy disturbados y poco disturbados siguiendo los criterios de Rodríguez Capítulo *et al.* (2001), Bauer *et al.* (2002), Ferreira (2015) y Solis *et al.* (2016). Los cuales se indexaron de acuerdo al Índice Biótico para arroyos y ríos pampeanos (IBPAMP).

◆ Los arroyos con alto IBPAMP (mayor a 5) se clasificaron como poco disturbados y los de bajo IBPAMP (menores a 5) como muy disturbados.

Capítulo 2



Diversidad y ecología parasitaria

2.1 Introducción

2.2 Metodología específica

2.2.1 Identificación morfológica

2.2.2 Identificación por PCR

2.2.3 Análisis filogenético

2.2.4 Análisis ecológico

Diversidad y ecología parasitaria

2.1 Introducción

Si bien en Argentina el conocimiento parasitológico sobre tortugas dulceacuícolas es escaso y fragmentario, para varias especies existe un número moderado de registros, principalmente en otros sitios dentro de su distribución sudamericana (ver Tabla 2; Gagno 2006; Fernandes & Kohn 2014; Mascarenhas & Müller 2021).

En este sentido, 11 especies de helmintos se registraron hasta el momento parasitando a *Acanthochelys spixii*: un digeneo en Uruguay (Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1969), y, un monogeneo, tres digeneos, cinco nematodos y un acantocéfalo en Brasil (Mascarenhas *et al.* 2013, 2016, 2017; Chaviel *et al.* 2020; Mascarenhas & Müller 2021).

En relación a *Hydromedusa tectifera*, se reportaron 16 especies de helmintos: un cestode, tres digeneos y un monogeneo en Uruguay (Cordero 1946; Mañé Garzón & Gil 1961a; Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1969; Kohn & Cohen 1998); una especie de cestode, dos digeneos y seis nematodos en Brasil (Mascarenhas *et al.* 2013; Novelli *et al.* 2014; Mascarenhas & Müller 2017, 2021); y finalmente, una especie de digeneo en Paraguay (Masi Pallarés *et al.* 1976). Hasta el inicio de este trabajo, para Argentina solo se habían reportado nematodos sin identificación específica (Alcalde *et al.* 2010).

En *Kinosternon scorpioides* se documentaron siete especies de helmintos, tres especies de digeneos y tres de nematodos en Brasil (Freitas & Dobbin 1971, Viana *et al.* 2016; Pereira *et al.* 2018); mientras que una especie de digeneo y un nematode descriptos en Venezuela (Díaz-Ungría 1978).

En el caso de *Mesoclemmys vanderhaegei* solo se registraron hasta el momento una especie de monogeneo y un nematode en Brasil (Avila *et al.* 2010).

Phrynops hilarii es una de las especies de tortuga con más registros parasitológicos, en Brasil se reportaron una especie de monogeneo, seis especies de digeneos y cuatro especies de nematodos (Bernardon *et al.* 2013; Mascarenhas *et al.* 2016; Chaviel *et al.* 2020). En Uruguay, se registraron dos especies de monogeneos y siete digeneos (Mañé-Garzón & Gil 1961a, 1961b, 1962; Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1969; Fernandes & Kohn 2014). Finalmente, en Argentina se documentaron cuatro especies de digeneos en Corrientes (Lombardero &

Moriene 1977), y una especie de digeneo en un ensayo de laboratorio en la provincia de Buenos Aires (Ostrowski de Núñez 1987).

Para *Phrynops geoffroanus* se han registrado dos especies de monogeneos, siete especies de digeneos y seis especies de nematodos en Brasil (Freitas & Dobbin Jr. 1967; Fernandes & Kohn 2014; Silva 2014; Vieira *et al.* 2016; Pereira *et al.* 2018; Achatz *et al.* 2021); y un digeneo en Colombia (Dubois 1979).

En *Trachemys dorbigni* se registraron dos especies de monogeneos, cuatro digeneos y siete especies de nematodos en Brasil (Mascarenhas & Müller 2013, 2015a, 2015b; Bernardon *et al.* 2014; Mascarenhas 2014); mientras que en Uruguay se reportaron dos monogeneos y dos digeneos (Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1968, 1973; Gagno 2006).

Las únicas especies para las cuales no se han registrado parásitos hasta la fecha son *Acanthochelys pallidipectoris* y *Phrynops williamsi* (Gagno 2006; Fernandes & Kohn 2014; Mascarenhas & Müller 2021).

La poca información sobre la fauna parasitaria de tortugas dulceacuícolas sudamericanas se ve reflejada en los escasos trabajos ecológicos realizados. El único estudio publicado hasta la fecha es de Pereira *et al.* (2018), quienes vincularon la dieta de *K. scordioides*, *Mesoclemmys tuberculata* (Lüderwaldt, 1926) y *P. geoffroanus* con sus parásitos, y estudiaron también la relación entre la morfología y el sexo del hospedador con su carga parasitaria.

Con respecto a la presencia de protozoos en tortugas dulceacuícolas de Sudamérica, solo se conoce una infección por *Sarcocystis* spp. (Apicomplexa: Coccidia) en *K. scordioides* en Brasil (Lainson & Shaw 1971).

El **objetivo general** de este capítulo es caracterizar la fauna parasitaria asociada a las tortugas de agua dulce presentes en Argentina. Para cumplir con ello se proponen los siguientes **objetivos específicos**:

- Identificar, describir y cuantificar las diferentes especies parásitas halladas.
- Describir y comparar las diferentes comunidades parásitas entre especies hospedadoras y regiones biogeográficas.

Tabla 2. Especies de helmintos registradas en tortugas que se distribuyen en Argentina. (A) Acantocéfalo, (C) Cestode, (D) Digeneo, (M) Monogeneo, (N) Nematode.

Hospedador	País	Especie parásita	Referencias		
<i>Acanthochelys spixii</i>	Brasil	<i>Caimanicola brauni</i> (D)	Chaviel <i>et al.</i> 2020		
		<i>Camallanus</i> sp. (N)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2013		
		<i>Cheloniodiplostomum</i> sp. (D)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2016		
		<i>Contraecaecum</i> sp. (N)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2017		
		<i>Dioctophyme renale</i> (N)	Chaviel <i>et al.</i> 2020		
		Pharyngodonidae gen. sp. (N)	Mascarenhas & Müller 2021		
		<i>Physaloptera</i> sp. (N)	Chaviel <i>et al.</i> 2020		
		Polymorphidae gen. sp. (A)	Mascarenhas & Müller 2021		
		<i>Polystomoides</i> sp. (M)	Chaviel <i>et al.</i> 2020		
		<i>Spiroxys contortus</i> (N)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2013		
	Uruguay	<i>Herpetodiplostomum wolffhugeli</i> (D)	Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1969		
<i>Hydromedusa tectifera</i>	Brasil	<i>Camallanus emydidius</i> (N)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2013; Chaviel <i>et al.</i> 2020		
		<i>Cheloniodiplostomum</i> sp. (D)			
		<i>Dioctophyme renale</i> (N)	Mascarenhas & Müller 2021		
		<i>Gnathostoma</i> sp. (N)			
		<i>Ophiotaenia</i> sp. (C)			
		<i>Spirocamallanus</i> sp. (N)	Novelli <i>et al.</i> 2014		
		<i>Spiroxys contortus</i> (N)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2013		
		<i>Telorchis</i> sp. (D)	Mascarenhas & Müller 2021		
			Paraguay	<i>Nematophila grandis</i> (D)	Masi-Pallarés <i>et al.</i> 1976
			Uruguay	<i>Herpetodiplostomum ovalis</i> (D)	Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1969
		<i>Iagotrema uruguayensis</i> (M)	Mañé-Garzón & Gil 1962		
		<i>Ophiotaenia cohospes</i> (C)	Cordero 1946		
		<i>Telorchis devincenzii</i> (D)			
		<i>Telorchis platensis</i> (D)	Mañé-Garzón & Gil 1961		
<i>Kinosternon scorpioides</i>	Brasil	<i>Nematophila grandis</i> (D)	Alho 1964		
		<i>Serpinema magathi</i> (N)	Freitas & Dobbin Jr. 1971; Viana <i>et al.</i> 2016		
		<i>Serpinema monospiculatus</i> (N)	Pereira <i>et al.</i> 2018		
		<i>Spiroxys figueiredoi</i> (N)	Freitas & Dobbin Jr. 1971; Viana <i>et al.</i> 2016		
		<i>Telorchis rapidulus</i> (D)	Dobbin Jr. 1957		
		<i>Telorchis diaphanus</i> (D)	Freitas & Dobbin Jr. 1959		
	Venezuela	<i>Camallanus kachugae</i> (N)			
		<i>Nematophila grandis</i> (D)	Díaz-Ungría 1978		
<i>Mesoclemmys vanderhaegei</i>	Brasil	<i>Spiroxys</i> sp. (N)	Avila <i>et al.</i> 2010		
		<i>Neopolystoma</i> sp. (M)			
<i>Phrynops Geoffroyanus</i>	Brasil	<i>Brevimulticaecum</i> sp. (N)	Silva 2014		
		<i>Camallanus</i> sp. (N)	Vieira <i>et al.</i> 2016		
		<i>Cheloniodiplostomum</i> sp. (D)	Novelli <i>et al.</i> 2014		
		<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i> (D)	Silva 2014		
		<i>Gorgoderina</i> sp. (D)	Pereira <i>et al.</i> 2018		
		<i>Nematophila grandis</i> (D)	Silva 2014		
		<i>Physaloptera retusa</i> (N)	Pereira <i>et al.</i> 2018		
		<i>Physaloptera</i> sp. (N)	Silva 2014		
		<i>Polystomoides brasiliensis</i> (N)	Vieira <i>et al.</i> 2008; Silva 2014; Santana <i>et al.</i> 2019		
		<i>Polystomoides</i> sp. (M)	Silva 2014		
<i>Prionosomoides scalaris</i> (D)	Freitas & Dobbin Jr. 1967				

	<i>Serpinema monospiculatus</i> (N)	Freitas & Dobbin jr. 1962; Silva 2014; Pereira <i>et al.</i> 2018
	<i>Spiroxys figueiredoi</i> (N)	Silva 2014; Pereira <i>et al.</i> 2018
	<i>Telorchis birabeni</i> (D)	Silva 2014
Colombia	<i>Cheloniodiplostomum brevis</i> (D)	Dubois 1979
	<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i> (D)	
Argentina	<i>Nematophila grandis</i> (D)	Lombardero & Moriена 1977
	<i>Prionosomoides scalaris</i> (D)	
	<i>Telorchis birabeni</i> (D)	
	<i>Caimanicola brauni</i> (D)	Chaviel <i>et al.</i> 2020
	<i>Camallanus</i> sp. (N)	Bernardon <i>et al.</i> 2013
	<i>Cheloniodiplostomum</i> sp. (D)	
	<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i> (D)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2016
	<i>Diectophyme renale</i> (N)	
Brasil	<i>Polystomoides</i> sp. (M)	Mascarenhas & Müller 2021
	<i>Prionosomoides</i> sp. (D)	
	<i>Spiroxys contortus</i> (N)	Chaviel <i>et al.</i> 2020
	<i>Spiroxys</i> sp. (N)	Bernardon <i>et al.</i> 2013
	<i>Telorchis birabeni</i> (D)	Mascarenhas <i>et al.</i> 2016
	<i>Timoniella ostrowski</i> (D)	Chaviel <i>et al.</i> 2020
	<i>Caimanicola brauni</i> (D)	Mañé-Garzón & Gil 1961a
	<i>Polystomoides fuquesi</i> (M)	Mañé-Garzón & Gil 1962
	<i>Polystomoides uruguayensis</i> (M)	
Uruguay	<i>Prionosomoides phrynopsis</i> (D)	
	<i>Telorchis birabeni</i> (D)	Mañé-Garzón & Gil 1961a
	<i>Telorchis productus</i> (D)	
	<i>Timoniella ostrowski</i> (D)	
	<i>Camallanus emydidius</i> (N)	Mascarenhas & Müller 2017
	<i>Camallanus</i> sp. (N)	Bernardon <i>et al.</i> 2014
	<i>Cheloniodiplostomum</i> sp. (D)	
	<i>Diectophyme renale</i> (N)	Mascarenhas & Müller 2015a
	<i>Eustrongylides</i> sp. (N)	Mascarenhas 2014
	<i>Falcaustra affinis</i> (N)	Mascarenhas & Müller 2015b
Brasil	<i>Neopolystoma</i> sp. (M)	Mascarenhas 2014
	<i>Polystomoides rohdei</i> (M)	
	<i>Spiroxys contortus</i> (N)	Mascarenhas & Müller 2015b
	<i>Spiroxys</i> sp. (N)	Bernardon <i>et al.</i> 2014
	<i>Telorchis achavali</i> (D)	Mascarenhas & Müller 2013
	<i>Telorchis corti</i> (D)	
	<i>Telorchis</i> sp. (D)	Mascarenhas 2014
	<i>Telorchis achavali</i> (D)	Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1973
Uruguay	<i>Telorchis dubius</i> (D)	Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1968
	<i>Polystomoides rohdei</i> (M)	

2.2 Metodología específica

2.2.1 Identificación morfológica

Para su estudio al microscopio óptico los helmintos fueron tratados siguiendo diferentes técnicas de coloración, aclaración y montaje (Pritchard & Kruse 1982):

- ◆ Los cestodos y digeneos fueron teñidos con carmín clorhídrico, para lo cual los ejemplares fueron previamente refijados durante 1 hora en formol al 5% y 1 hora en etanol 70%, luego se colorearon, y finalmente, fueron deshidratados en una serie gradual de etanoles (del 70% al 100%). Antes de montarlos en preparados permanentes con bálsamo de Canadá natural, se diafanizaron con Eugenol por alrededor de 30 segundos (dependiendo del tamaño del individuo).
- ◆ Los nematodos fueron aclarados con lactofenol de Amman y montados entre portaobjetos y cubreobjetos en preparados transitorios.

Para obtener mayor detalle de algunas estructuras externas o internas de los helmintos se aplicaron otras técnicas como la observación al microscopio electrónico de barrido y cortes histológicos:

- ◆ Microscopio electrónico de barrido (MEB): los ejemplares se deshidrataron en una serie gradual de etanoles, se trataron con la técnica de Punto Crítico, se metalizaron y se montaron para la correcta observación de las características externas en un MEB Jeol/SET 100®.
- ◆ Cortes histológicos: se realizaron cortes seriados de 8 a 10 micras, que fueron teñidos con Hematoxilina - Eosina, comprendiendo ejemplares en sus sitios de localización para observar el modo de fijación a los tejidos del hospedador, así como también para estudiar en detalle los órganos internos de los parásitos.

Para lograr la esporulación de los ooquistes, las muestras de materia fecal se conservaron en una solución de dicromato de potasio al 2,5% a 35 °C por 30 días. En caso de obtener esporulación de coccidios similares a *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 en los preparados de materia fecal, se realizaron tinciones con la técnica de Ziehl Neelsen, la cual tiene la característica de colorear a los ooquistes de *Cryptosporidium* de color fucsia.

Para la identificación de los parásitos se utilizaron claves y bibliografía específica (Yamaguti 1961; Gibson *et al.* 2002; Anderson *et al.* 2009). Todas las medidas están expresadas en micras (μm), en caso contrario se indican. Las medidas entre paréntesis indican el máximo y el mínimo de cada set de datos.

Se depositaron ejemplares de cada taxón obtenido en esta tesis en la colección Helminológica del Museo de la Plata.

Las especies de *Hyalella* fueron identificadas por la Dra. Inés Cesar, especialista en crustáceos de agua dulce.

2.2.2 Identificación por PCR

Cuando las condiciones de colecta lo permitieron, se aislaron parásitos en tubos *epENDORF* que fueron congelados a -20°C para realizar análisis genético-moleculares.

Nematodes: Se realizó la extracción de ADN de un macho adulto y una hembra grávida del género *Camallanus* colectados del estómago de *Acanthochelys pallidipectoris* y una hembra adulta de *Kinosternon scorpioides*, nueve adultos del género *Hedruris* (cinco machos y cuatro hembras) parásitos de *Hydromedusa tectifera* y cinco sub adultos hallados en *Hyalella bonariensis* Freitas dos Santos, Araujo & Bond-Buckup, 2008. El ADN se extrajo de los aislados usando 200 µl de solución Chelex al 5% (Bio-Rad Laboratorios, CA, EEUU), 0,2 mg/ml de Proteinasa K (Roche) e incubándolo *overnight* a 56°C, seguido por 10 min a 95°C. La amplificación del rADN nuclear 18S se llevó a cabo utilizando los primers Nem_18S_F y Nem_18S_R (Floyd *et al.* 2005) que tienen una longitud aproximada de 900 pb del gen. Cada 50 µl de PCR contiene 25 µl de GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, EEUU), 2,5 µl de cada primer, 17 µl de agua y 3 µl de ADN extraído. Para la amplificación se utilizó un termociclador Eppendorf Mastercycler ep gradient S (Thermal Cycler 96 WELL, Hamburgo, Alemania), con un programa que consistió en 94°C 15 min, seguido por 35 ciclos de 94°C por 30 s, 60° por 30 s y 72°C por 70 s, con una extensión final de 72°C por 240 s.

Digeneos: Se realizó la extracción de ADN de un individuo adulto del género *Atamatum* colectados del intestino de una *Hydromedusa tectifera*. El ADN genómico se extrajo con el kit comercial Puro Genomic DNA siguiendo las instrucciones del fabricante (PB-L, Argentina). La amplificación del rADN nuclear 28S se llevó a cabo utilizando los primers LSU5 (Littlewood 1994), 300F (Littlewood *et al.* 2000) y 1500R (Snyder & Tkach 2001) que tienen una longitud aproximada de 1000 pb del gen. Cada 50 µl de PCR contiene 25 µl de GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA), 2,5 µl de cada primer, 17 µl de agua y 3 µl de ADN extraído. Para la amplificación se utilizó un termociclador Eppendorf Mastercycler ep gradient S (Thermal Cycler 96 WELL, Hamburg, Germany), con un programa que consistió en 94°C 4 min, seguido por 30 ciclos de 95°C por 60 s, 60° por 60 s y 72°C por 120 s, con una extensión final de 72°C por 4 min.

Los productos de la PCR se purificaron y secuenciaron en Macrogen, Corea del Sur. Las secuencias fueron editadas y alineadas utilizando Chromas® versión 2.6.6 y GAP® versión 4.11.2 (Bonfield *et al.* 1995) para luego compararlas con la base de datos del NCBI usando BLAST versión 2.2.26 (Altschul *et al.* 1997) con el fin de hallar secuencias similares a las obtenidas.

2.2.3 Análisis filogenético

Camallanus

Para los análisis filogenéticos, las secuencias 18S rADN obtenidas se alinearon con las secuencias de las especies de Camallanidae encontradas en GenBank utilizando el programa Clustal W implementado en MEGA7 (Kumar *et al.* 2016). *Philonema oncorhynchi* (Kuitunen-Ekbaum, 1933) se incluyó como grupo externo. Desafortunadamente no pudimos incluir a *Serpinema cayennensis* Harnoster, Svitin & Du Preez, 2019, porque la secuencia disponible en GenBank sólo cubre una región parcial del extremo 3' del gen 18S y no se superponía con nuestras secuencias (Harnoster *et al.* 2019). La alineación fue recortada en ambos extremos a la longitud de la secuencia más corta y las posiciones que no pudieron ser alineadas sin ambigüedad fueron excluidas del análisis. El árbol filogenético se reconstruyó por Máxima Verosimilitud (MV) utilizando MEGA 7. Se eligió el mejor modelo de sustitución (T3 +G + I) y se estimó bajo el criterio de información de Akaike con jModelTest 2.1.10 (Darriba *et al.* 2012). El apoyo nodal del análisis de MV se estimó mediante la realización de 3.000 pseudorrelicas de bootstrap. A fin de estimar las tasas de divergencia interespecífica entre las especies de *Camallanus*, se estimó la distancia genética (distancias p no corregidas por pares) a partir de las secuencias 18S utilizando el modelo de *p-distance* en MEGA7.

Hedruris

Las secuencias 18S ADNr obtenidas fueron alineadas con otras secuencias de *Hedruris* disponibles en GenBank usando el Programa Clustal W (Larkin *et al.* 2007). El árbol filogenético fue reconstruido usando el método ML y la distancia genética fue estimada usando el modelo de Kimura's (1980) *two-parameter* (K2-P) con el programa MEGA7. Una secuencia de una especie de Spiruridae (GenBank JQ771746) se incluyó como grupo externo. Los análisis de Bootstrap se realizaron utilizando 500 réplicas. Las diferencias genéticas en los conjuntos de datos también fueron calculadas con el programa MEGA7, usando *p-distance* no corregidas.

Atamatam

Las secuencias 28S ADNr obtenidas fueron alineadas con otras secuencias de Spirorchiidae disponibles en GenBank usando el Programa Clustal W. El árbol filogenético fue reconstruido usando el método ML y la distancia genética fue estimada usando el modelo de General Time Reversible model (GTR) con el programa MEGA7. Tres especies del género *Elopicola* Bullard, 2014 (KY243880 - 81) se incluyeron como grupo externo, siguiendo el criterio de Bullard *et al.* (2019). Los análisis de Bootstrap se realizaron utilizando 1000 réplicas. A fin de estimar las tasas de divergencia interespecífica entre las especies de Spirorchiidae presentes en Sudamérica, se estimó la distancia genética (distancias p no corregidas por pares) a partir de las secuencias 28S utilizando el modelo de *p-distance* en MEGA7.

2.2.4 Análisis ecológico

Se calcularon los índices parasitológicos de prevalencia e intensidad media siguiendo las definiciones de Bush *et al.* (1997):

- ◆ **Prevalencia (P):** número de hospedadores infectados con uno o más individuos de un taxón parásito en particular, respecto del número total de hospedadores examinados en un momento dado.
- ◆ **Abundancia (A):** número total de individuos de un taxón parásito en particular.
- ◆ **Intensidad media (IM):** número de individuos de un taxón parásito en particular, dividido el número de hospedadores parasitados por dicho taxón.
- ◆ **Carga parasitaria:** se mide básicamente por la distribución de frecuencia de una especie de parásito en una población de hospedadores (Bautista-Hernández *et al.* 2015).

Se calcularon los siguientes índices según Magurran (1988):

- ◆ **Riqueza específica:** número de especies parásitas presentes en la comunidad.
- ◆ **Índice de Shannon-Wiener (H')**: Mide la diversidad de organismos. Se basa en la abundancia proporcional de las especies y en el número de especies:

$$H' = \sum (\pi).(\ln\pi)$$

donde π es la proporción de individuos de la especie i en la muestra.

♦ **Equitatividad (E):** mide la diferencia entre la diversidad observada y la esperada, varía entre 0 y 1. Se aproxima a 0 cuando una especie es ampliamente dominante en el seno de la comunidad y a 1 cuando todas las especies tienen una abundancia similar:

$$E = \frac{H'}{D_{max}}$$

donde H' es el índice de Shannon-Wiener y D_{max} es la diversidad máxima.

♦ **Índice de Simpson (λ):** es un índice de dominancia. Cuanto más se acerca el valor de 1, menor es la diversidad y un valor de $\lambda = 0$, indica una diversidad infinita.

$$\lambda = \sum \left(\frac{n}{N} \right)^2$$

donde n es el número total de parásitos de una especie en particular y N es el número total de especies parásitas.

♦ **Índice de diversidad de Simpson ($1-\lambda$):** En este caso, el valor del índice también oscila entre 0 y 1, pero ahora, cuanto mayor es el valor, mayor es la diversidad de la muestra.

♦ **Índice recíproco de Simpson ($1/\lambda$):** El valor de este índice comienza con 1 como la cifra más baja posible. Este caso representaría una comunidad que contiene solo una especie. Cuanto mayor sea el valor, mayor será la diversidad.

♦ **Índice de Berger Parker (D):** es un índice de dominancia que varía entre 0 y 1, cuanto más se acerca a 1 significa que mayor es la dominancia y menor la diversidad.

$$d = \frac{N_{max}}{N_T}$$

donde N_{max} es la abundancia máxima y N_T es la abundancia total.

Las curvas de acumulación de especies y los índices de Jaccard y *Sørensen* solo se aplicaron en *H. tectifera* y *P. hilarii*, ya que no se contó con una muestra representativa para el resto de las especies de tortugas.

♦ **Curvas de acumulación de especies (rarefacción):** Con los datos obtenidos de cada ejemplar de tortuga analizado, se construyó primero la curva suavizada de acumulación de especies observadas. La curva de rarefacción basada en muestras, representa la esperanza estadística

del número de especies observado al remuestrear en el total de unidades de muestreo de cada ejemplar con esfuerzos crecientes (Gotelli & Colwell 2001).

♦ **Índice de similitud cualitativo de Jaccard (J):** El índice de similitud de Jaccard para datos cualitativos se calculó como:

$$J = \frac{C}{A + B - C}$$

donde A es el número de especies presentes en el hospedador A, B es el número de especies presentes en el hospedador B y C es el número de especies comunes entre A y B.

♦ **Coefficiente de similitud (S):** se utilizó el coeficiente de *Sørensen* para expresar el grado de semejanza entre comunidades (Brower y Zar 1977).

Todos los índices y análisis estadísticos se calcularon utilizando RStudio, versión 4.1.0 (2021). Se empleó un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

2.3 Resultados

2.3.1. Diversidad parasitaria

Un total de 23 especies de helmintos fueron registradas durante este trabajo: una especie de cestode, 11 digeneos y 11 nematodos. También se registraron dos tipos diferentes de coccidios. Para aquellos hallazgos que no presentan inconvenientes ni contradicciones taxonómicas y/o sistemáticas, solo se incluye un breve diagnóstico morfológico con sus respectivas ilustraciones.

Phylum Apicomplexa

Clase Sporozoa

Eucoccida

Cryptosporidiidae Léger, 1911

Cryptosporidium Tyzzer, 1907

Cryptosporidium spp.

Diagnosis: Se detectaron ooquistes de pared gruesa ácido-etanol resistentes de 4 a 6 μm compatibles con *Cryptosporidium* spp. (Fig. 11, Tabla 3).

Hospedadores: *Acanthochelys pallidipectoris*, *Hydromedusa tectifera* y *Trachemys dorbigni*.

Muestra: Materia fecal.

Tabla 3: Parámetros poblacionales para *Cryptosporidium* spp. por hospedador. N_H = Numero de hospedadores examinados; P = Prevalencia.

Hospedador	N _H	P	Localidad
<i>Acanthochelys pallidipectoris</i>	6	33,30%	Santa Fe
<i>Hydromedusa tectifera</i>	10	20%	Buenos Aires
<i>Trachemys dorbigni</i>	1	100%	Buenos Aires

Comentarios: Existen muy pocos registros de *Cryptosporidium* en tortugas y en ningún caso pudieron ser identificados a nivel específico (Duszynski & Morrow 2014). Este es el primer registro de ooquistes compatibles con *Cryptosporidium* en tortugas dulceacuícolas en Argentina, y el primero para estas tres especies de quelonios. No es posible la confirmación a nivel específico ya que ello debe realizarse mediante una PCR y en este estudio no fue posible por la calidad de las muestras.

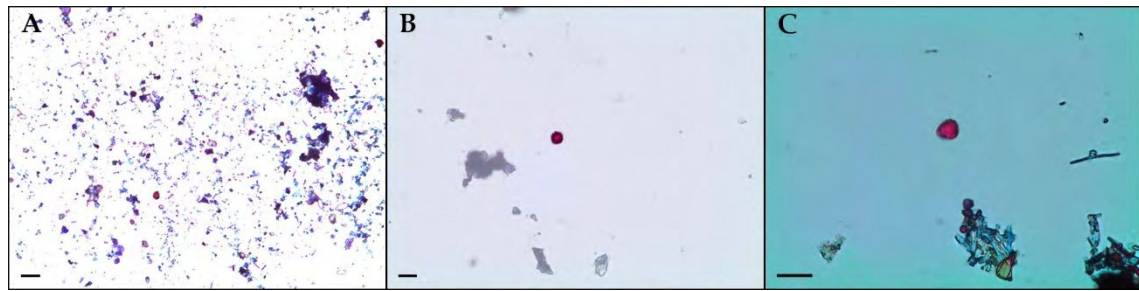


Figura 11: Microfotografías de ooquistes compatibles con *Cryptosporidium* spp. en *A. pallidipectoris* (A), *H. tectifera* (B) y *T. dorbigni* (C). Escala 10 μ m.

Eimeriidae Minchin, 1903

Eimeria Schneider, 1875

Eimeria spp.

Diagnosis: Ooquistes esporulados de forma oval, con pared fina. El tamaño varía entre 15 y 20 μ m. Con cuatro esporocistos de forma elongada-ovalada, cubiertos de una membrana fina (Fig. 12, Tabla 4).

Hospedadores: *Acanthochelys pallidipectoris*, *Hydromedusa tectifera* y *Trachemys dorbigni*.

Muestra: Materia fecal.

Tabla 4: Parámetros poblacionales para *Eimeria* spp. por hospedador. N_H = Numero de hospedadores examinados; P = Prevalencia.

Hospedador	N _H	P	Localidad
<i>Acanthochelys pallidipectoris</i>	6	50%	Santa Fe
<i>Hydromedusa tectifera</i>	10	50%	Buenos Aires
<i>Trachemys dorbigni</i>	1	100%	Buenos Aires

Comentarios: Los coccidios de los géneros *Eimeria* e *Isospora* son los protozoarios que más frecuentemente parasitan tortugas (Duszynski & Morrow 2014). Si bien existe una diferencia en el tamaño entre ambos géneros, la característica más conspicua es la cantidad de esporocistos que posee cada género (cuatro en *Eimeria* y dos en *Isospora*), siendo dicho caracter el utilizado para diferenciar entre los géneros. Estos registros documentan los primeros hallazgos de *Eimeria* spp. en estas especies de tortugas dulceacuícolas.



Figura 12: Microfotografías de ooquistes esporulados de *Eimeria* spp. en *A. pallidipectoris* (A), *H. tectifera* (B) y *T. dorbigni* (C). Escala 10 μ m.

Phylum Platyhelminthes

Clase Cestoda

Proteocephalidea Mola, 1928

Proteocephalidae La Rue, 1911

Ophiotaenia La Rue, 1911

Ophiotaenia cohospes Cordero, 1946

Descripción general (basada en 20 especímenes maduros, Fig. 13): individuos con estróbilos de color blanquecino, con un tamaño promedio de 80 a 120 mm de largo y 800 de ancho. Scolex con cuatro ventosas iguales, lisas y elípticas que miden 140 de largo por 110 de ancho (Fig. 13 A, B). Los primeros estróbilos son más anchos que largos, pero se van alargando, cambiando su relación a medida que se alejan del scolex. Proglótides acraspédotas; proglótides maduras con testículos foliculares distribuidos en dos campos laterales. Ovario bilobulado, situado en la parte posterior de la proglótide. Glándulas vitelógenas foliculares laterales. Útero medular. Poro genital lateral en posición media (Fig. 13 C).

Hospedador: *Hydromedusa tectifera*.

Sitio de infección: Si bien son parásitos de intestino, algunos de los presentes ejemplares fueron recuperados de regurgitados y muestras de materia fecal.

Tabla 5: Parámetros poblacionales para *O. cohospes* por localidad. N_H = Número de hospedadores examinados; *a partir de vísceras, **a partir de regurgitados y fecas. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N _H	P	A	IM	Localidad
	11*	36,36%	244	61	Buenos Aires
<i>Hydromedusa tectifera</i>	121**	7,43%	12	1,33	
	1*	100%	5	5	Tanti, Córdoba

Comentarios: Esta especie fue descrita parasitando a *H. tectifera* en Uruguay (Cordero 1946) y hallada posteriormente en anuros de Brasil, Ecuador y Paraguay (McAllister *et al.* 2010a, b; Campião *et al.* 2015). *Ophiotaenia cohospes* no volvió a ser registrada en tortugas desde su descripción, siendo este el primer reporte luego de 70 años, y a su vez el primero para Argentina.

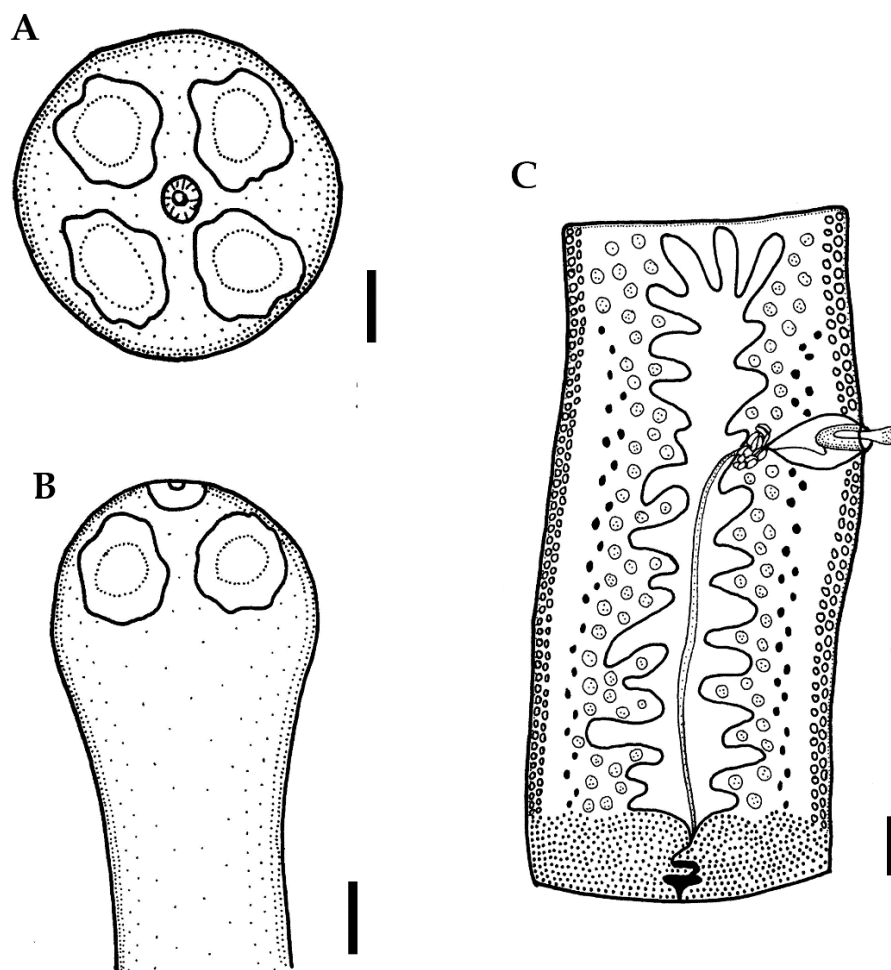


Figura 13: *Ophiotaenia cohospes* en vista apical (A), vista lateral del extremo anterior (B) y proglótide madura (C). Escala 100 µm.

Clase Digenea

Diplostomida Olson, Cribb, Tkach, Bray & Littlewood 2003

Proterodiplostomidae Dubois, 1936

Cheloniodiplostomum Sudarikov, 1960

Recientemente Achatz *et al.* (2021) sugirieron que el género *Cheloniodiplostomum* Sudarikov, 1960 debía ser considerado como un sinónimo junior de *Herpetodiplostomum* Dubois, 1936, basando su propuesta en que la diferencia de hospedadores (tortugas *vs.* caimanes), los límites del vitelario (anterior al acetábulo *vs.* posterior al acetábulo) y la presencia o ausencia de papilas en el *holdfast* no serían características suficientes para diferenciar entre ambos géneros. Si bien dichos autores demuestran que hay especies de ambos géneros que presentan papilas en el *holdfast*, no pudieron encontrar evidencias de especies descritas como *Cheloniodiplostomum* que estén presentes en caimanes, ni de especies descritas como *Herpetodiplostomum* en tortugas, tampoco pudieron corroborar molecularmente una asociación entre los géneros, dado que solo secuenciaron una especie, sin poder compararla con otro taxón del género. Morfológicamente, existe una clara diferencia en la distribución de los folículos vitelógenos entre ambos géneros. En este trabajo se siguió la clasificación propuesta por Sudarikov (1960), y confirmada por varios autores (Dubois 1968, 1978, 1979, 1982; Gibson *et al.* 2002; Mascarenhas & Müller 2021). Si bien consideramos que las especies *Herpetodiplostomum duboisi*, *Herpetodiplostomum ovalis*, *Herpetodiplostomum wolffhügeli* y *Herpetodiplostomum vogti* deberían ser transferidas al género *Cheloniodiplostomum*, (ya que poseen el patrón de distribución de las papilas vitelógenas descrita para este último género, y además son parásitos de tortugas), son necesarios estudios más exhaustivos y análisis moleculares para corroborar esta hipótesis.

En este trabajo se hallaron 3 especies de este género, las cuales se indican a continuación:

Cheloniodiplostomum testudinis (Dubois, 1936)

Descripción general (basada en 20 individuos maduros, Fig. 14 A y 16 A, Tabla 6): Cuerpo corto 2,10 mm (2,00–2,35) dividido en dos partes por una constricción localizada a nivel del ovario y el testículo anterior, *forebody* aplanado 1,50 mm (1,32–1,70) x 420 (400–460) y *hindbody* cilíndrico 660 (650–680) x 400 (350–450). Ventosa oral 55 (50–60) x 52 (50–55) redondeada, pequeña, subterminal, sin prefaringe; faringe redondeada y corta 65 (60–70)

x 45 (40–50); esófago corto 115 (110–120); ciegos bifurcados por encima del acetábulo que alcanzan el borde posterior del testículo posterior; acetábulo redondeado 75 (70–80) x 75 (70–80), de tamaño similar a la ventosa oral; *holdfast* redondeado 181 (180–185) x 160 (160–165), ubicado en el *forebody* con glándulas proteolíticas en el borde posterior (Fig. 16 A); testículos en tándem, con 140 (110–160) x 200 (180–220) el testículo anterior y el posterior de 120 (110–140) x 210 (180–280); ovario redondeado 70 (60–75) x 80 (80–85) pretesticular; útero completamente en el *hindbody*; cono genital redondeado, en la cual la paraprostata abre en un canal independiente y el útero y la vesícula seminal abren en un ducto hermafrodita común; ootipo intertesticular; el vitelario se extiende desde la bifurcación de los ciegos hasta el ovario; huevos no observados.

Hospedadores: *Hydromedusa tectifera* y *Phrynosops hilarii*.

Sitio de infección: Intestino.

Localidades: Arroyo Buñirigo, partido de Magdalena, provincia de Buenos Aires y Cañada de Gómez, departamento de Iriondo, provincia de Santa Fe.

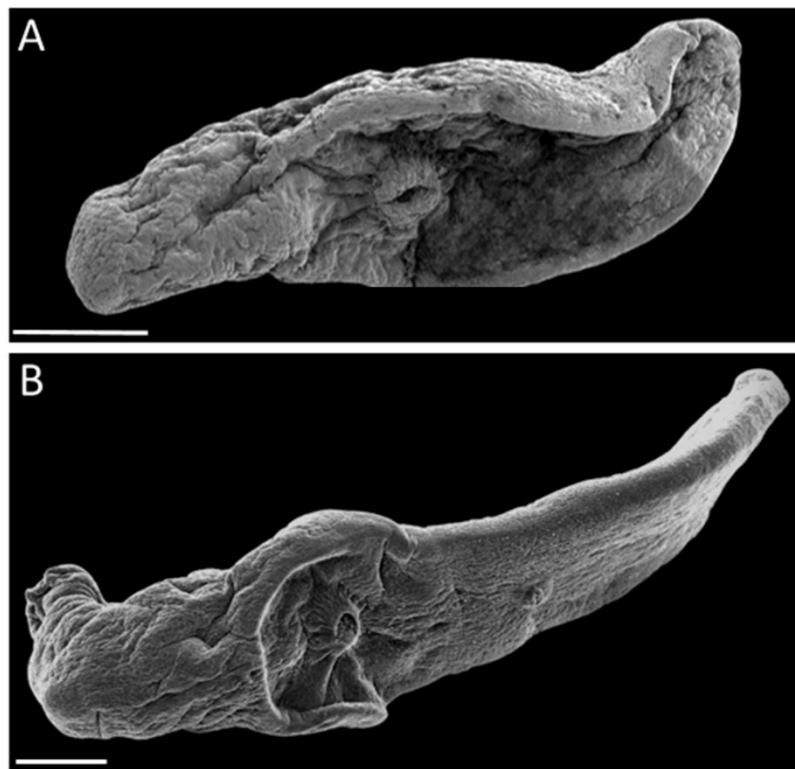


Figura 14: Microfotografías MEB de adultos de *Cheloniodiplostomum testudinis* (A) y *Cheloniodiplostomum argentinense* (B). Escala 200 μm .

Cheloniodiplostomum argentinense Palumbo & Diaz, 2018

Descripción general (basada en 50 individuos maduros, Fig. 14 B y 15 A, Tabla 6): Cuerpo alargado 3,44 mm (2,32–4,90) dividido en una parte anterior o *forebody* 2,45 mm (1,63–3,91) de largo por 0,27 (0,10–0,40) de ancho, en forma de cinta, y una parte posterior o *hindbody* cilíndrica 840 (0,55–1,25) de largo por 288 (166–416) de ancho. Los bordes laterales del *forebody* se unen en su margen lateral y posterior generando una concavidad. Ventosa oral 65 (56–84) x 53 (45–74) redondeada, pequeña, subterminal; prefaringe corta de 15 (13–16) de largo; faringe redondeada y corta 67 (59–80) x 43 (35–53); esófago corto de 140 (78–278) de largo; los ciegos se bifurcan anteriormente al acetábulo y alcanzan el extremo posterior del cuerpo hasta los testículos; acetábulo redondeado 80 (73–91) x 66 (56–83), de forma y tamaño similar a la ventosa oral; órgano tribocítico o *holdfast* elíptico 207 (169–320) x 134 (100–190), situado en el *hindbody*, con glándulas proteolíticas en el borde posterior de la ventosa (Fig. 16 B); testículos en tándem, de 198 (115–300) largo x 154 (76–250) ancho el testículo anterior y el posterior de 215 (108–354) largo x 168 (86–297) ancho (Fig. 16 C); ovario pretesticular redondeado de 103 (48–125) largo x 85 (64–125) ancho; útero completamente en el *hindbody*; ootipo intertesticular; las glándulas vitelógenas se extienden posterior a la bifurcación del ciego hasta el borde posterior del ovario, los ductos del vitelario se unen en el ducto vitelario común a nivel intertesticular. Extremo posterior (Fig. 15 B) del cuerpo bifurcado: una porción roma y otra con una proyección dorsal en forma de embudo en la cual se abre la bolsa copulatoria, estructura que se observa mejor en una vista lateral. Cono genital redondeado, en la cual la paraprostata abre en un canal independiente y el útero y la vesícula seminal abren en un ducto hermafrodita común. Presentan pocos huevos elípticos de 110 x 60 (Fig. 16 D).

Hospedador tipo: *Phrynos hylarii*.

Sitio de infección: intestino.

Localidad tipo: Arroyo Buñirigo, Buenos Aires, Argentina.

Holotipo: MLP-He-7418.

Paratipos: MLP-He-7419.

Etimología: El epíteto específico “*argentinense*” hace referencia al país donde fue hallada por primera vez.

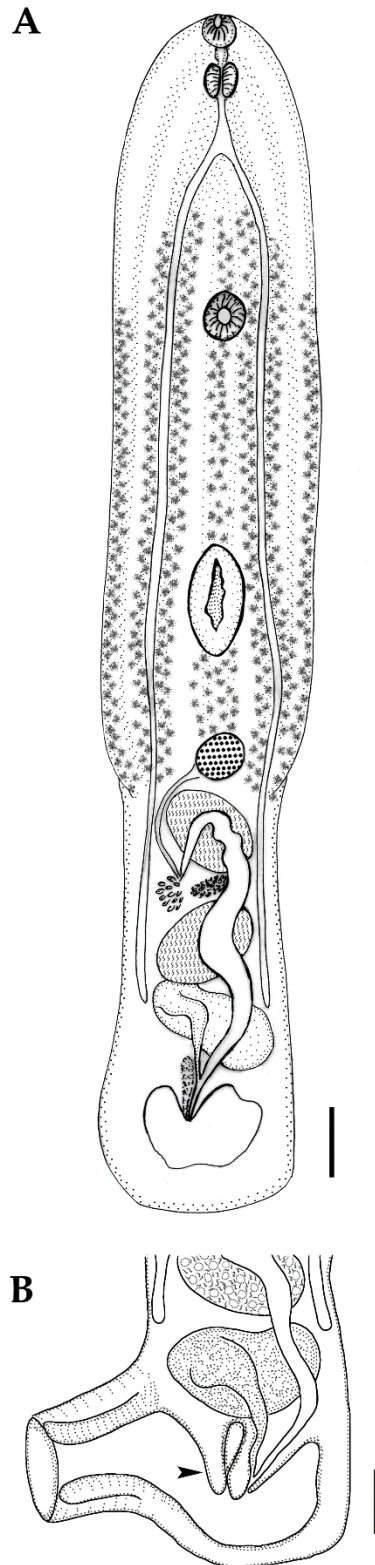


Figura 15: *Cheloniodiplostomum argentinense* (A) Espécimen entero en vista ventral. (B) Detalle del extremo posterior mostrando el detalle del cono genital (flecha) en vista lateral. Escala 100µm.



Figura 16: *Chelonioidiplostomum* spp. (A) *Chelonioidiplostomum testudinis* mostrando holdfast (flecha negra) y glándulas proteolíticas (flecha blanca). (B) *Chelonioidiplostomum argentinense* mostrando holdfast (flecha negra) y glándulas proteolíticas (flecha blanca). (C) Detalle del extremo caudal de *C. argentinense* (D) Huevo (flecha) en el útero de *C. argentinense*. Escala 100 μm .

***Cheloniodiplostomum* sp.**

Una gran cantidad de individuos (N = 500) pertenecientes al género *Cheloniodiplostomum* fueron registrados en una *P. hilarii* hallada muerta en los alrededores del Museo de La Plata, de la cual no es posible conocer el lugar de procedencia. Lamentablemente los parásitos no pudieron ser identificados a nivel específico ya que se trató de ejemplares inmaduros (Tabla 6). Los caracteres que ubicaron a estos ejemplares dentro del género *Cheloniodiplostomum* fueron la distribución de los folículos vitelógenos, las glándulas proteolíticas presentes y que su hospedador sea una tortuga (*P. hilarii*).

***Herpetodiplostomum* Dubois, 1936**

***Herpetodiplostomum duboisi* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1969**

Descripción general (basada en 6 individuos maduros, Fig. 17, Tabla 6): Cuerpo alargado de forma lanceolada de 2,26 mm (1,98–2,49) dividido en dos partes por una constricción localizada a nivel del testículo anterior, *forebody* aplanado 1,43 mm (1,32–1,70) x 522 (507–558) y *hindbody* cilíndrico 813 (648–1002) x 499 (435–605). Ventosa oral 73 (65–95) x 63 (50–80) circular, pequeña, subterminal, sin prefaringe; faringe redondeada y corta 60 (53–67) x 46 (42–49); esófago corto 106 (66–133); ciegos bifurcados por encima del acetábulo que alcanzan el borde posterior del testículo posterior; acetábulo redondeado 89 (82–94) x 86 (66–104), de tamaño similar a la ventosa oral; *holdfast* redondeado 211 (171–268) x 195 (163–218), ubicado en el *forebody* con papilas en el borde posterior; testículos en tándem, con 184 (110–159) x 304 (295–308) el testículo anterior y el posterior de 177 (155–200) x 293 (272–314); ovario redondeado de 103 (78–129) x 109 (107–111) pretesticular; útero completamente en el *hindbody*; ootipo intertesticular; cono genital redondeado, en la cual la paraprostata abre en un canal independiente y el útero y la vesícula seminal abren en un ducto hermafrodita común; el vitelario se extiende posterior a la bifurcación de los ciegos hasta la mitad del testículo anterior; varios huevos elípticos de 100 x 62.

Hospedador: *Phrynops williamsi*.

Sitio de infección: Intestino.

Localidades: Capitán Andresito, provincia de Misiones.

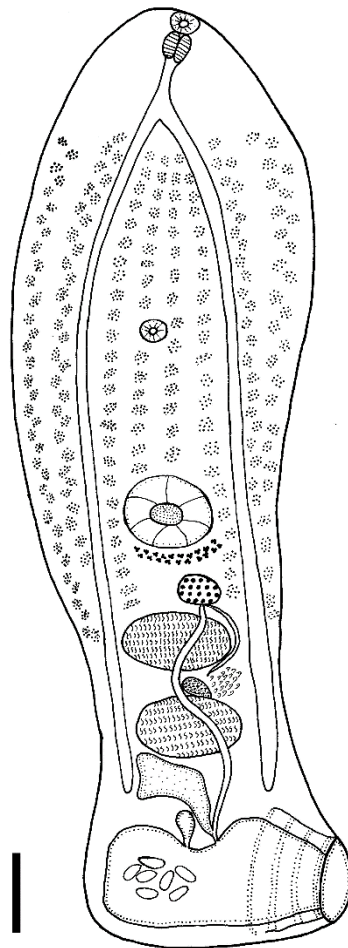


Figura 17: Ilustración esquemática de *Herpetodiplostomum duboisi*. Escala 200 μm

Tabla 6: Parámetros poblacionales por localidad para las especies halladas de la familia Proterodiplostomidae. N_{He} = Numero de hospedadores eviscerados. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N_{He}	P	A	IM	Localidad
<i>Cheloniodiplostomum argentinense</i>					
	5	40%	376	188	Buenos Aires
<i>Phrynops hilarii</i>	7	71,42%	150	30	Entre Ríos
	7	14,28%	42	42	Santa Fe
<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i>					
<i>Hydromedusa tectifera</i>	11	9,09%	19	19	Buenos Aires
	5	20%	5	5	Buenos Aires
<i>Phrynops hilarii</i>	7	42,85%	30	10	Santa Fe
<i>Cheloniodiplostomum sp.</i>					
<i>Phrynops hilarii</i>	5	20%	500	500	Buenos Aires
<i>Herpetodiplostomum duboisi</i>					
<i>Phrynops williamsi</i>	2	50%	96	96	Misiones

Comentarios: Hasta el inicio de este trabajo de tesis se reconocían 3 especies de *Cheloniodiplostomum* parasitando a tortugas Neotropicales: *Cheloniodiplostomum brevis* parasitando a *Phrynops geoffroanus* en Colombia y a *Kinosternon scorpioides* al sur de los Estados Unidos (MacCallum 1921; Dubois 1979), *Cheloniodiplostomum delillei* (Zerecero, 1947) registrada en *Chelydra serpentina* (L.) y *Claudius angustatus* Cope, 1875 en México (Thatcher 1963, 1964), y *Cheloniodiplostomum testudinis* descrita para *Testudo* sp. (género y especie desconocidos) en Brasil (Dubois 1936) y luego citada para *P. geoffroanus* en Brasil y *P. hilarii* en Corrientes, Argentina (Lombardero & Moriena 1977; Fernandes & Kohn 2014; Silva 2014; Mascarenhas *et al.* 2016; Palumbo & Diaz 2018).

La especie *Herpetodiplostomum duboisi* Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1969 no se volvió a registrar desde su descripción original parasitando a *P. hilarii* en el departamento de Artigas, Uruguay (Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1969). Como se resaltó anteriormente, futuros estudios moleculares podrían apoyar la hipótesis que propone cambiar esta especie al género *Cheloniodiplostomum*.

Como parte de los resultados de este trabajo de tesis se describió una nueva especie de *Cheloniodiplostomum*, i.e. *C. argentinense* Palumbo & Diaz, 2018, se amplió el registro geográfico de *C. testudinis* en *P. hilarii* para Buenos Aires y Entre Ríos, y se dieron a conocer un nuevo registro de hospedador para *C. testudinis* en *H. tectifera* y para *H. duboisi* en *P. williamsi*. Este es el primer registro de un parásito asociado a *P. williamsi*.

Spirorchiidae Stunkard, 1921

Atamatam Bullard & Roberts, 2019

Atamatam sp.

Descripción general (basada en 3 individuos, medidas de un individuo adulto, Fig. 18): Cuerpo angosto y alargado, de 1,37 mm de largo por 166 de ancho, extremo posterior redondeado. Ventosa oral terminal, de 61 x 48; acetábulo no observado; esófago 440 de largo, sinuoso, dividiéndose en los ciegos a nivel de las glándulas vitelógenas, el ciego izquierdo (745) más largo que el derecho (679); testículos en tándem, lobulados, ocupan el espacio intracecal; testículo anterior de 94 x 69 ubicado entre la bifurcación cecal y la vesícula seminal externa y testículo posterior de 115 x 66 ubicado entre el ovario y el extremo posterior del ciego; ovario lobulado de 94 x 60, intertesticular; vesícula seminal

externa, ovalada, de 37 x 57; saco del cirro intertesticular, contiene a la vesícula seminal interna; poro genital a la derecha del ovario; el vitelario se dispone en folículos redondeados que ocupan el área intra y extracecal, partiendo anterior a la bifurcación de los ciegos hasta el extremo posterior del cuerpo. Huevos no observados.

Hospedador: *Hydromedusa tectifera*.

Sitio de infección: Intestino.

Localidad: Arroyo Martín, La Plata y Canal Muñiz, Lobos, provincia de Buenos Aires.

Material estudiado: Se hallaron dos individuos adultos en una tortuga colectada en el arroyo Martín y un individuo en una tortuga procedente del Canal Muñiz de Lobos (P = 18,18%, IM= 1,50).

Comentarios: Dutton *et al.* (2019) sugirieron que aquellas especies incluidas en el género dentro de la familia Spirorchiidae que no poseen acetábulo deberían incluirse en un género diferente. En este sentido, Bullard *et al.* (2019) crearon un género nuevo (*Atamatam*), el cual se diferencia de *Amphiorchis* Price, 1934 principalmente por la ausencia de acetábulo. *Atamatam amazoniensis* Bullard & Roberts, 2019 (única especie del género) se diferencia del ejemplar registrado en esta tesis por la presencia de mamelones espinosos en la pared del cuerpo. La inclusión de los estudios moleculares confirmó la posición de estos ejemplares dentro del género *Atamatam*, formando un grupo monofilético con el resto de las especies secuenciadas, en su mayoría a partir de cercarias que colectaron de gasterópodos (e.g. *Biomphalaria* spp.) identificadas como Spirorchiidae sp. y especies del género *Paratamatam* Bullard & Roberts, 2019 y *Pitiutrema* Dutton & Bullard, 2019. La especie *Atamatam* sp. del presente estudio mostró p-distancias (para el rADN 28S, Tabla 7) que varían de 0,4% al 5,4% cuando se la comparó con el resto de especies de Spirorchiidae descritas para Sudamérica, siendo *A. amazoniensis* la más cercana (0,4%), seguida por Spirorchiidae sp. (0,5%). En el cladograma (Fig. 19) se observa la diferenciación entre las especies de Schistosomatoidea de agua dulce (grupos A, B y C) y las marinas (grupo D). Así mismo, la familia Schistosomatidae (grupo B) no tiene representantes de la familia Spirorchiidae (grupos A, C y D), por lo que formaría un grupo bien diferenciado del resto de las familias. También, se forma un grupo monofilético con las especies sudamericanas (grupo C) registradas en Argentina, Brasil y Perú. Se destaca el hecho que en el grupo D, todos los hospedadores definitivos de las especies secuenciadas son tortugas marinas, por lo que cabría esperar que las cercarias

secuenciadas a partir de gasterópodos, culminen el ciclo en dichos hospedadores. Este cladograma concuerda con los propuestos por Pinto *et al.* (2015), Bullard *et al.* (2019), Dutton *et al.* (2019) y Cicheto *et al.* (2021), y contribuye al soporte filogenético del género *Atamatam* y a toda la familia de especies sudamericanas (grupo C).

Tabla 7: P-distancias de las secuencias de 28S rADN del clado de especies de Spirorchiidae presentes en Sudamérica.

Especies	1	2	3	4	5	6	7
1 <i>Atamatam</i> sp. (Presente estudio)							
2 <i>Atamatam amazoniensis</i> (MK775718 - Perú)	0,004						
3 <i>Paratamatam iquitosiensis</i> (MK775719 - Perú)	0,019	0,016					
4 <i>Pitiutrema revelae</i> (MN244241 - Perú)	0,054	0,051	0,049				
5 Spirorchiidae sp. (KT235799 - Brasil) *	0,020	0,019	0,018	0,056			
6 Spirorchiidae sp. (KT235800 - Brasil) *	0,021	0,020	0,019	0,057	0,001		
7 Spirorchiidae sp. (MT340093 - Brasil) *	0,024	0,021	0,016	0,050	0,020	0,021	
8 Spirorchiidae sp. (MT340095 - Brasil) *	0,005	0,001	0,017	0,050	0,020	0,021	0,022

* Secuencias obtenidas a partir de cercarias infectando a *Biomphalaria* spp.

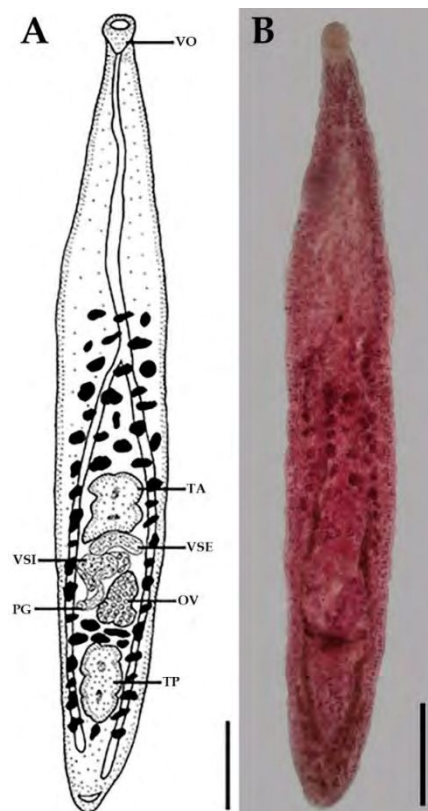


Figura 18: Ilustración esquemática (A) y microfotografía (B) de *Atamatam* sp. VO Ventosa oral. TA Testículo anterior. VSE Vesícula seminal externa. VSI Vesícula seminal interna. OV Ovario. PG Poro genital. TP Testículo posterior. Escala 100 μ m.

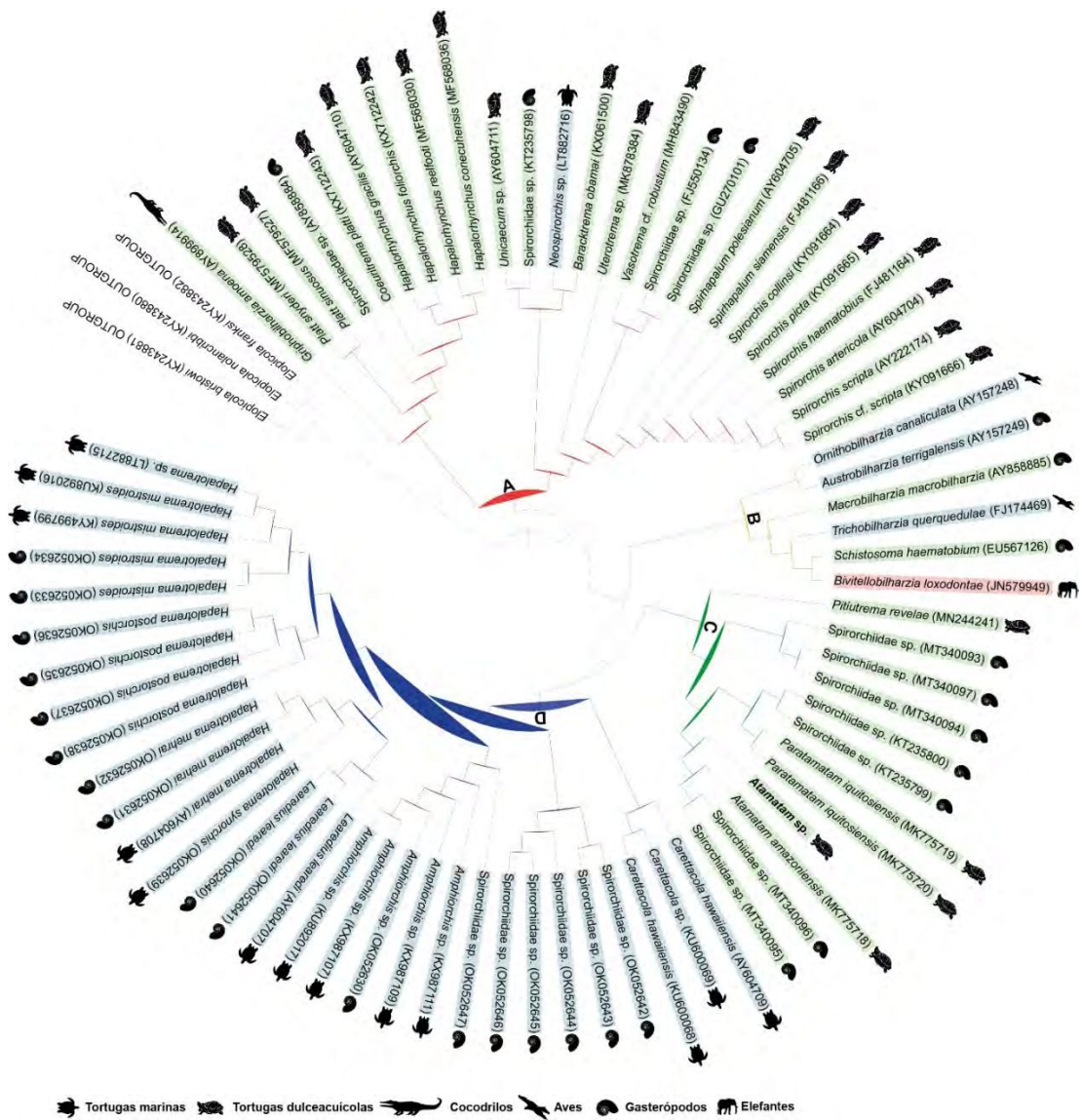


Figura 19: Relaciones filogenéticas entre las especies de Schistosomatoidea inferida a partir de las secuencias de 28S ADNr (1000 pb) analizadas por el método de Máxima Verosimilitud (ML). **Sombreado Azul** Ambientes marinos. **Sombreado Verde** Ambientes dulceacuicolas. **Sombreado Rojo** Ambientes terrestres.

Plagiorchiida La Rue, 1957

Cryptogonimidae Ward, 1917

Caimanicola Freitas & Lent, 1938

Caimanicola brauni (Mañé-Garzón & Gil, 1961)

Diagnosis: La presencia de una corona de 24 espinas rodeando la ventosa oral, la faringe globosa, la distribución de los órganos reproductores (ovario y testículos en tándem en el extremo posterior) y los ciegos que terminan abriendo al exterior en la parte posterior del cuerpo, son las principales características que identifican a estos ejemplares como *C. brauni* (Fig. 20).

Hospedador: *Phrynops hilarii*.

Sitio de infección: Intestino.

Localidad: Arroyo Buñirigo, Magdalena, Buenos Aires.

Material estudiado: Se hallaron 15 individuos adultos en solo uno de los hospedadores eviscerados (P = 20%, IM= 15).

Comentarios: Esta especie fue descrita para *P. hilarii* en Uruguay (Mañé-Garzón & Gil 1961a) y registrada posteriormente para *A. spixii* y *P. hilarii* en Brasil y experimentalmente en Buenos Aires, Argentina (Ostrowski de Núñez 1987). El presente hallazgo representa el primero de la especie en una tortuga de vida silvestre en Argentina.

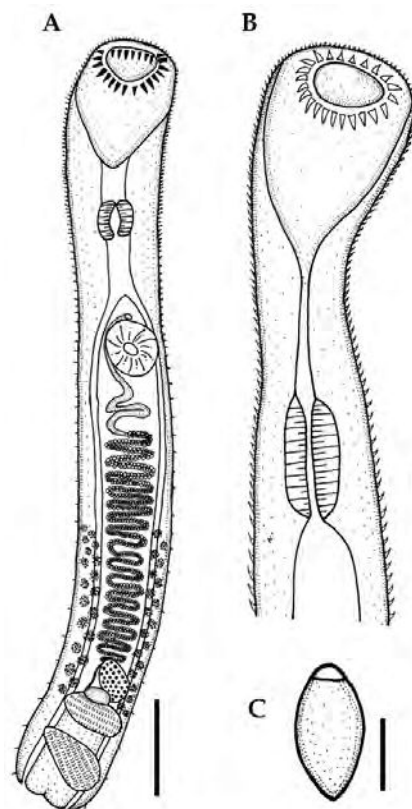


Figura 20: *Caimanicola brauni*. (A) Ejemplar completo. (B) Detalle extremo anterior.

Escala 200 μ m. (C) Huevo. Escala 20 μ m.

Echinostomatidae Looss, 1899*Prionosomoides* Freitas & Dobbin, 1967*Prionosomoides phrynopsis* (Mañé-Garzón & Gil, 1961)

Diagnosis: La presencia de un disco peristómico con 47 dientes dispuestos en una sola fila, el tamaño de la ventosa oral (170 x 168) y la ventral (502 x 420), la distribución pretesticular del ovario y los testículos en tándem cerca de la mitad del cuerpo, permiten identificar a estos individuos como *Pr. phrynopsis* (Fig. 21, Tabla 8).

Tabla 8: Parámetros poblacionales de *Pr. phrynopsis* por localidad. N_{He} = Número de hospedadores eviscerados. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N _{He}	P	A	IM	Localidad
	7	90%	98	16,3	Entre Ríos
<i>Phrynops hilarii</i>	7	14,28%	6	6	Santa Fe
	2	50%	273	273	Tucumán

Comentarios: El género *Prionosomoides* incluye tres especies parásitas de tortugas dulceacuícolas, *Pr. scalaris* Freitas & Dobbin, 1967 parásita de *P. geoffroanus* en Brasil (Freitas & Dobbin Jr. 1967) y *P. hilarii* en Argentina (Lombardero & Moriena 1977), *Pr. taiwanensis* Fischthal & Kuntz, 1975 parásita de *Mauremys reevesii* (Gray, 1831) en Taiwán (Fischthal & Kuntz 1975) y *Pr. phrynopsis* reportada en *P. hilarii* en Uruguay (Mañé-Garzón & Gil 1961a). Este hallazgo representa el primer registro de *Pr. phrynopsis* en Argentina.

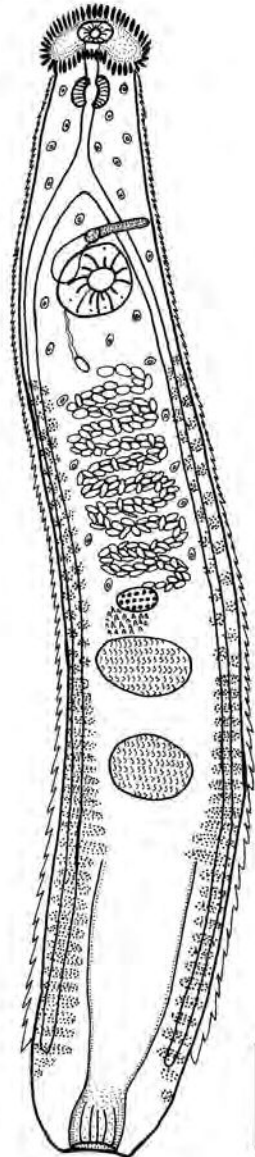


Figura 21: Ilustración esquemática de *Prionosomoides phrynopsis*. Escala 300 μm .

Telorchiidae Looss, 1899

Telorchis Lühe, 1899

Las especies del género *Telorchis* son parásitas de anfibios y reptiles, con mayor ocurrencia en tortugas, y se encuentran presentes en América, Asia y Europa (Font & Lotz 2009). Solo en Sudamérica existen 23 registros en tortugas de agua dulce (Lenis 2009; Mascarenhas & Müller 2021). La distribución de sus órganos internos es muy variable dentro y entre especies, lo cual ha generado a lo largo del tiempo una gran dificultad para delimitar especies (Watertor 1967). En este trabajo se hallaron cuatro especies de *Telorchis*, las cuales pudieron ser identificadas a nivel específico.

Telorchis birabeni Mañé-Garzón & Gil, 1961

Diagnosis: El gran tamaño de la ventosa oral (241 x 239) y ventral (187 x 164), la presencia de prefaringe y una faringe globosa, la distancia entre el acetábulo y el ovario, el tamaño y disposición de los testículos, la distribución de las glándulas vitelógenas (desde el ovario al testículo anterior) y la presencia en el extremo posterior del cuerpo de un conducto excretor que finaliza en un poro excretor, ubican a estos individuos dentro de la especie *T. birabeni* (Fig. 22 A, Tabla 9).

Hospedadores: *Phrynops hilarii* y *Phrynops williamsi*.

Sitio de infección: Intestino.

Comentarios: La especie fue previamente registrada para *P. hilarii* en Argentina, Brasil y Uruguay, y para *P. geoffroanus* en Brasil (Mañé-Garzón & Gil 1961b; Lombardero & Moriena 1977; Silva 2014; Mascarenhas *et al.* 2016). Este es el primer registro para las provincias de Entre Ríos y Santa Fe en *P. hilarii*, y el primer registro para *P. williamsi*.

Telorchis devincenzii Mañé-Garzón & Gil, 1961

Diagnosis: La ventosa oral mayor (235 x 214) al acetábulo (112 x 105), la presencia de prefaringe, la faringe globosa, bolsa del cirro yuxtaovárica y glándulas vitelógenas de posición cecal y extracecal, colocan a estos ejemplares dentro de la especie *T. devincenzii* (Fig. 22 B, Tabla 9).

Hospedador: *Hydromedusa tectifera*.

Sitio de infección: Intestino.

Comentarios: Luego de su hallazgo y descripción en *Hydromedusa tectifera* para Canelones, Uruguay (Mañé-Garzón & Gil 1961b) la especie no fue registrada nuevamente. Catto & Amato (1993) transfirieron algunas especies del género *Telorchis* a *Pseudotelorchis* Yamaguti, 1971. Sin embargo, *T. devincenzii* no fue transferida. Algunos autores (Fernandes & Kohn 2014; Mascarenhas & Müller 2021) infirieron que Catto & Amato (1993) habían transferido también a *T. devincenzii* y por este motivo incluyeron erróneamente sus hallazgos dentro del género *Pseudotelorchis*. Cabe destacar que las características de *T. devincenzii* son propias del género *Telorchis* y no de *Pseudotelorchis*.

Telorchis diaphanus Freitas & Dobbin Jr., 1959

Diagnosis: El tamaño de la ventosa oral (223 x 246), la ausencia de prefaringe, la forma ovoide del ovario y su distancia al acetábulo, así como la distribución asimétrica de las glándulas vitelógenas, identifican a estos ejemplares como *T. diaphanus* (Fig. 22 C, Tabla 9).

Hospedador: *Phrynops hilarii*.

Sitio de infección: Intestino.

Comentarios: Esta especie fue descrita para *Kinosternon scorpioides* en el estado de Pernambuco, Brasil (Freitas & Dobbin Jr. 1959). Este constituye el primer registro de la especie para *P. hilarii* y para Argentina.

Telorchis dubius Mañé-Garzón & Holcman-Spector, 1968

Diagnosis: La forma lanceolada del cuerpo, la pequeña ventosa oral (146 x 162), la ausencia de prefaringe, esófago largo, bolsa del cirro grande yuxtaovárica, ovario ovoide y glándulas vitelógenas que superan al ovario, son caracteres que permiten ubicar a estos ejemplares dentro de la especie *T. dubius* (Fig. 22 D, Tabla 9).

Hospedador: *Trachemys dorbignii*.

Sitio de infección: Intestino.

Comentarios: Esta especie fue registrada únicamente en Uruguay para *Trachemys dorbignii* (Mañé-Garzón & Holcman-Spector 1968). Este es el segundo registro para la especie y representa el primer registro geográfico de la especie para Argentina.

Tabla 9: Parámetros poblacionales de las especies de *Telorchis* halladas por localidad. N_{He}= Número de hospedadores eviscerados. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N _{He}	P	A	IM	Localidad
<i>Telorchis birabeni</i>					
<i>Phrynops hilarii</i>	7	14%	3	3	Entre Ríos
	7	42,85%	30	10	Santa Fe
<i>Phrynops williamsi</i>	2	50%	43	43	Misiones
<i>Telorchis devincenzii</i>					
<i>Hydromedusa tectifera</i>	11	9,09%	4	4	Buenos Aires
<i>Telorchis diaphanus</i>					
<i>Phrynops hilarii</i>	1	100%	15	15	Corrientes
<i>Telorchis dubius</i>					
<i>Trachemys dorbignii</i>	2	50%	7	7	Entre Ríos

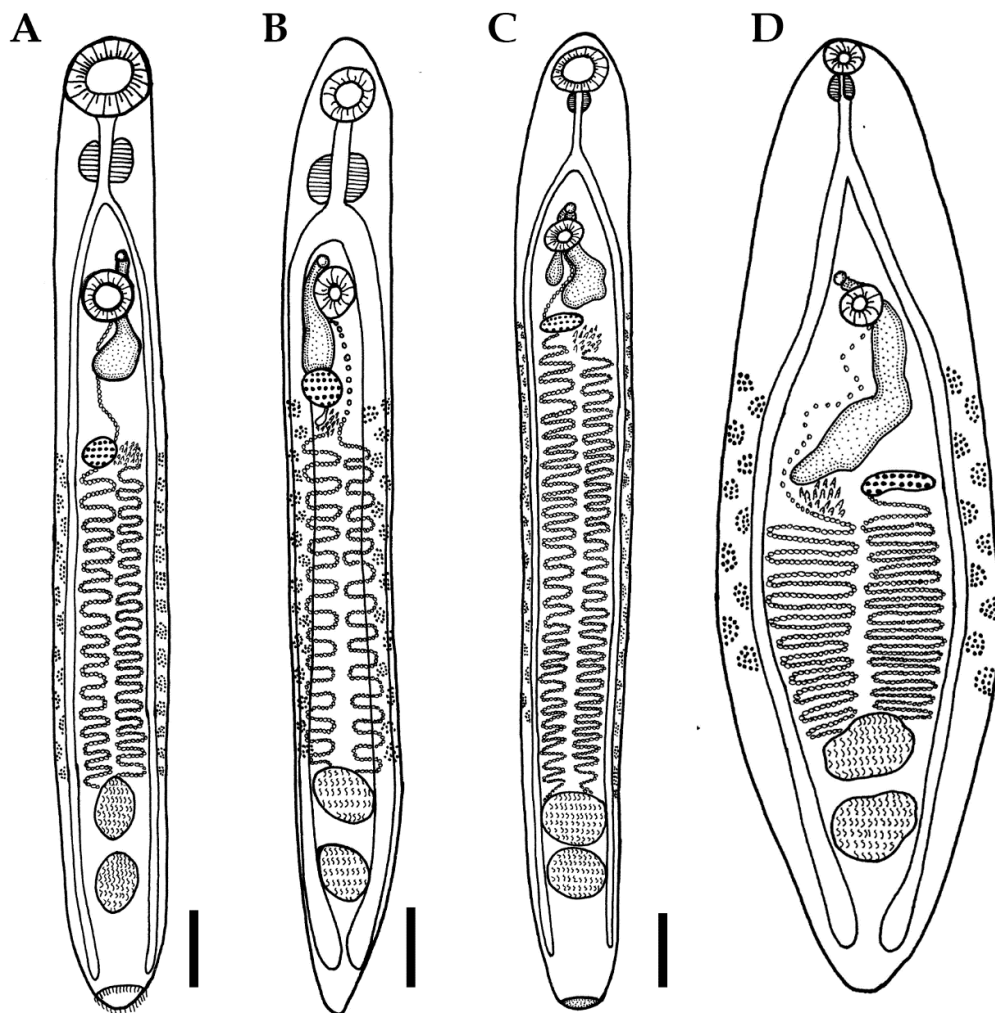


Figura 22: Ilustraciones esquemáticas de las distintas especies de *Telorchis* halladas. (A) *T. birabeni*. (B) *T. devincenzii*. (C) *T. diaphanus*. (D) *T. dubius*. Escala 200 μm .

Phylum Nematoda

Clase Chromadorea

Ascaridida

Kathlaniidae Lane, 1914

Falcaustra Lane, 1915

Falcaustra affinis (Leidy, 1856)

Diagnosis (basada en 10 especímenes, Fig. 23): Tres labios largos vesiculares presentes en el extremo anterior, cada uno con un par de pedúnculos bifurcados que se extienden hacia el borde del cuerpo. Papilas cefálicas presentes. Los deiridos se ubican a nivel medio del

esófago. Esófago dividido en faringe, cuerpo, istmo y bulbo. El poro excretor anterior al istmo. Los machos poseen una pseudoventosa ventral muscular. El extremo posterior se curva ventralmente. La región ventral entre la cloaca y la pseudoventosa contiene de 35 a 43 pares de músculos. Diez pares de papilas caudales presentes, tres precloacales y siete postcloacales. Espículas esclerotizadas casi de igual tamaño. Governáculo bien desarrollado. En las hembras, la vulva se ubica en la región posterior del cuerpo y la vagina se dirige anteriormente. Cola cónica, con un par de fasmidios cerca de la punta. Huevos elípticos de pared fina.

Hospedador: *Trachemys dorbigni*.

Sitio de infección: Intestino.

Localidades: Arroyo El Pescado, La Plata, Buenos Aires; Concordia, Entre Ríos.

Material estudiado: Se hallaron 10 individuos adultos en Buenos Aires ($N_{He} = 1$, $P = 100\%$, $IM = 10$) y 712 ejemplares en Entre Ríos ($N_{He} = 2$, $P = 100\%$, $IM = 356$).

Comentarios: Esta especie fue registrada originalmente en tortugas y anfibios de América del Norte (Baker 1986). Recientemente, Mascarenhas & Müller (2015b) la hallaron parasitando a *T. dorbigni* en Rio Grande do Sul, Brasil. El presente hallazgo es el registro más austral para la especie y el primer registro geográfico para Argentina. Es interesante destacar que en la parte posterior del tubo digestivo de los ejemplares de *F. affinis* de Buenos Aires, se encontraron coccidios pertenecientes al género *Eimeria* Schneider, 1875 (Fig. 24). Llamativamente los ooquistes estaban esporulados, los cuales coincidían con los hallados en los preparados de materia fecal que se le realizaron a la tortuga hospedadora. Esto podría indicar la presencia de hiperparasitismo en *F. affinis*, siendo el primer registro para esta especie parásita.

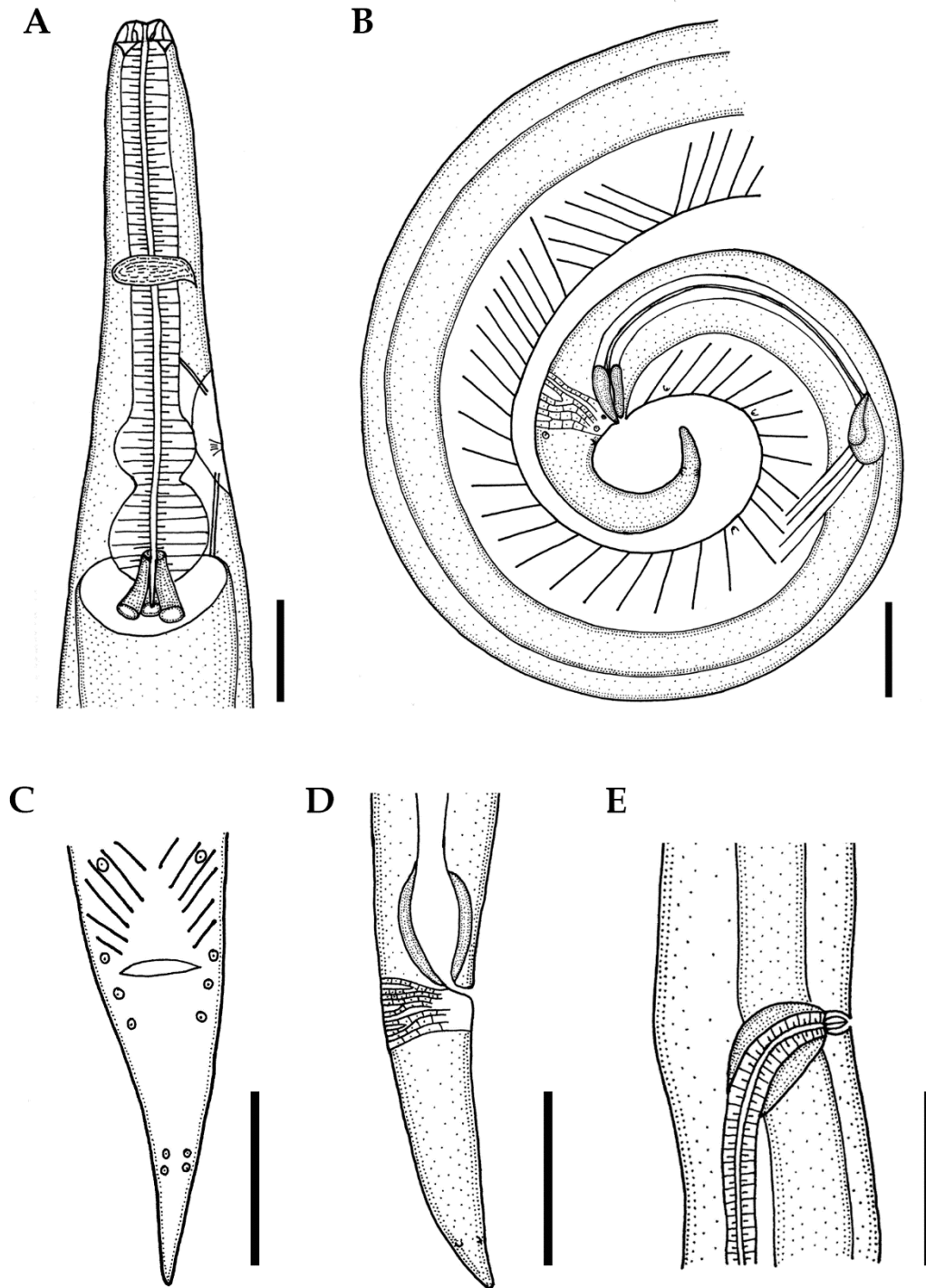


Figura 23: Ilustraciones esquemáticas de *Falcaustra affinis*. Extremo anterior, vista lateral (A), extremo caudal, vista lateral (B) y vista ventral (C) del macho, extremo posterior de la hembra, vista lateral (D) y vulva, vista lateral (E) . Escalas 200 μ m.



Figura 24: Extremo posterior de una hembra de *Falcaustra affinis* con *Eimeria* sp. (recuadro) dentro del tubo digestivo. Escala 200 μ m.

Oxyurida Chabaud, 1974

Pharyngodonidae Travassos, 1919

Los nematodos de la Familia Pharyngodonidae suelen ser parásitos de hospedadores terrestres, en Sudamérica hay dos registros en tortugas, Pharyngodonidae gen. sp. para *Acanthochelys spixii* en Brasil (Mascarenhas & Müller 2021) y *Thelandros* sp. para *Chelonoidis carbonara* (Spix, 1824) en Venezuela (Pérez Mata *et al.* 2014). Los hábitos semi terrestres de las tortugas de los géneros *Acanthochelys* y *Kinosternon*, propiciarían la infección por este grupo de parásitos.

Thelandros Wedl, 1862

Thelandros sp.

Descripción general (basada en cuatro hembras grávidas, Fig. 25, Tabla 10): Cuerpo robusto de 3,44 (2,7 - 4,25) mm de largo y 412 (298 - 554) de ancho, con anulaciones en la cutícula. Abertura bucal triangular, rodeada por tres labios bilobulados, con un ánfido pedunculado en cada lóbulo ventrolateral. Largo total del esófago 382 (350 - 402), el corpus 250 (245 - 255), el istmo 20 (16 - 22) y el bulbo 94 (91 - 98). Anillo nervioso y poro excretor a 120 (112 - 135) y 473 (418 - 544) del extremo anterior, respectivamente. Vulva, postecuatorial, a 1,42 (1,10 - 1,84) mm del extremo posterior. El ano abre al final del cuerpo, el

cual termina en un filamento caudal de 366 (327 – 388) de largo. Huevos ovalados de 84 (81 – 88) x 41 (36 – 49), con opérculo terminal.

Hospedador: *Acanthochelys pallidipectoris* y *Phrynops hilarii*.

Sitio de infección: Intestino. Los presentes ejemplares fueron recuperados de regurgitados y muestras de materia fecal.

Localidad: Alrededores de J. V. Gonzáles, Salta y Vera, Santa Fe.

Tabla 10: Parámetros poblacionales de *Thelandros* sp. por localidad. N_H = Número de regurgitados + fecas de hospedadores. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N _H	P	A	IM	Localidad
<i>A. pallidipectoris</i>	46	2,17%	2	2	Salta
	18	5,50%	2	2	Santa Fe
<i>P. hialrii</i>	3	33%	1	1	Chaco

Comentarios: La estructura cefálica, la morfología del esófago, la posición del poro excretor y de la vulva, la cola pedunculada y la forma de los huevos indican que estos individuos pertenecen al género *Thelandros* (De Sousa *et al.* 2019). Desafortunadamente solo se hallaron hembras, por lo cual no fue posible llegar a identificarlos a nivel específico. Este es el primer registro del género para una especie de tortuga de agua dulce.

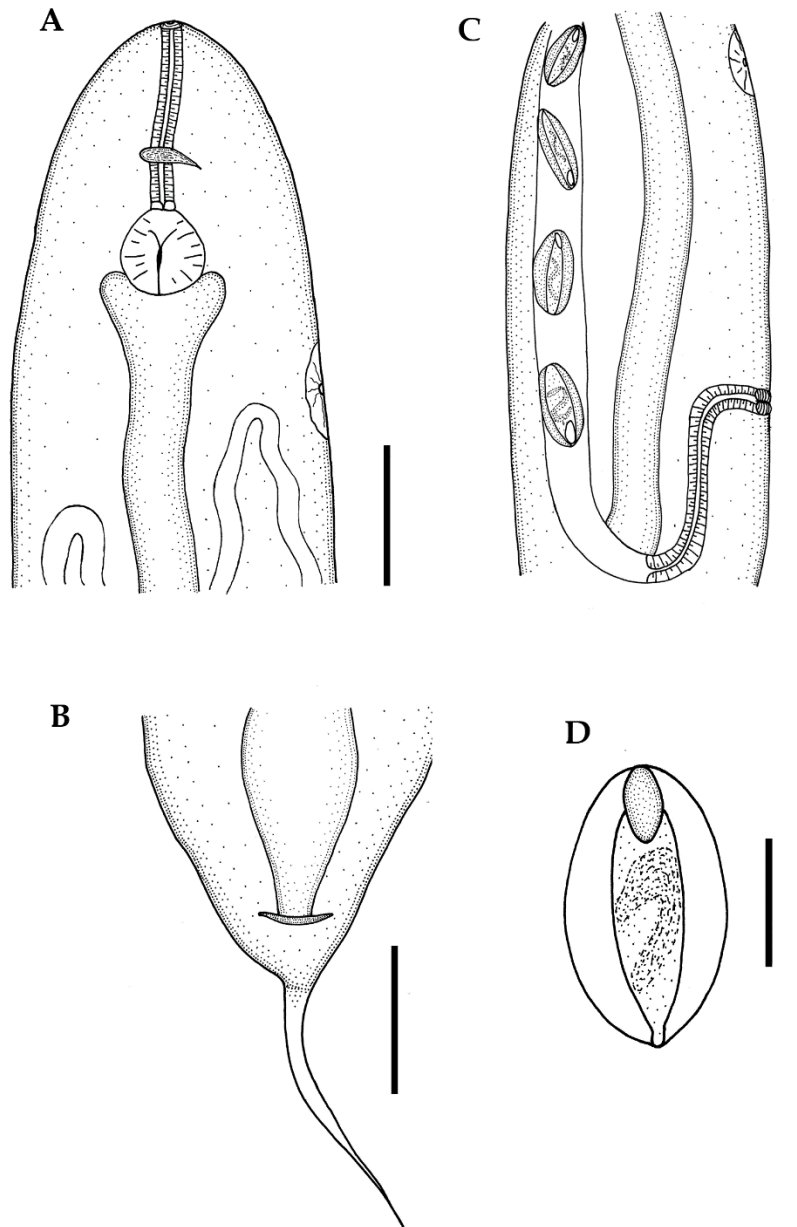


Figura 25: *Thelandros* sp. detallando extremo anterior, vista lateral (A), extremo posterior, vista ventral (B), vulva (C) y huevo (escala 50 μm) (D). Escalas 100 μm .

Pharyngodonidae gen. y sp. indet.

Descripción general (basada en dos hembras grávidas, Fig. 26, Tabla 11): Pequeño nematode de 2,35 – 2,75 mm de largo y 113 – 125 de ancho, cuerpo cilíndrico, truncado anteriormente y estrecho en el extremo posterior. Boca rodeada de tres labios triangulares. Sin cápsula bucal. Esófago de 289 – 310 de largo, termina formando un bulbo de 100 – 115 x 120 – 127. Poro excretor abre a 355 – 389 del extremo anterior. La vulva abre a 730 – 764 del extremo caudal, en la parte media-posterior del cuerpo. De uno a cinco huevos elípticos de 59 – 61 x 45 – 49.

Hospedadores: *Acanthochelys pallidipectoris* y *Kinosternon scorpioides*.

Sitio de infección: Intestino. Recuperados de regurgitados y muestras de materia fecal.

Localidad: Alrededores de Miraflores, Chaco y alrededores de J.V. González, Salta.

Tabla 11: Parámetros poblacionales de Pharyngodonidae gen. sp. indet. N_H = Número de regurgitados + fecas de hospedadores. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	NH	P	A	IM	Localidad
<i>A. pallidipectoris</i>	46	2,17%	2	2	Salta
<i>K. scorpioides</i>	8	12,50%	1	1	Chaco
	5	20%	1	1	Salta

Comentarios: Solo se encontraron una hembra en *A. pallidipectoris* y dos hembras en regurgitados de *K. scorpioides*. Debido al estado del material y a que solo se trató de hembras, no fue posible su identificación a nivel genérico ni específico. Este hallazgo representa el primer registro de la familia para *K. scorpioides*.

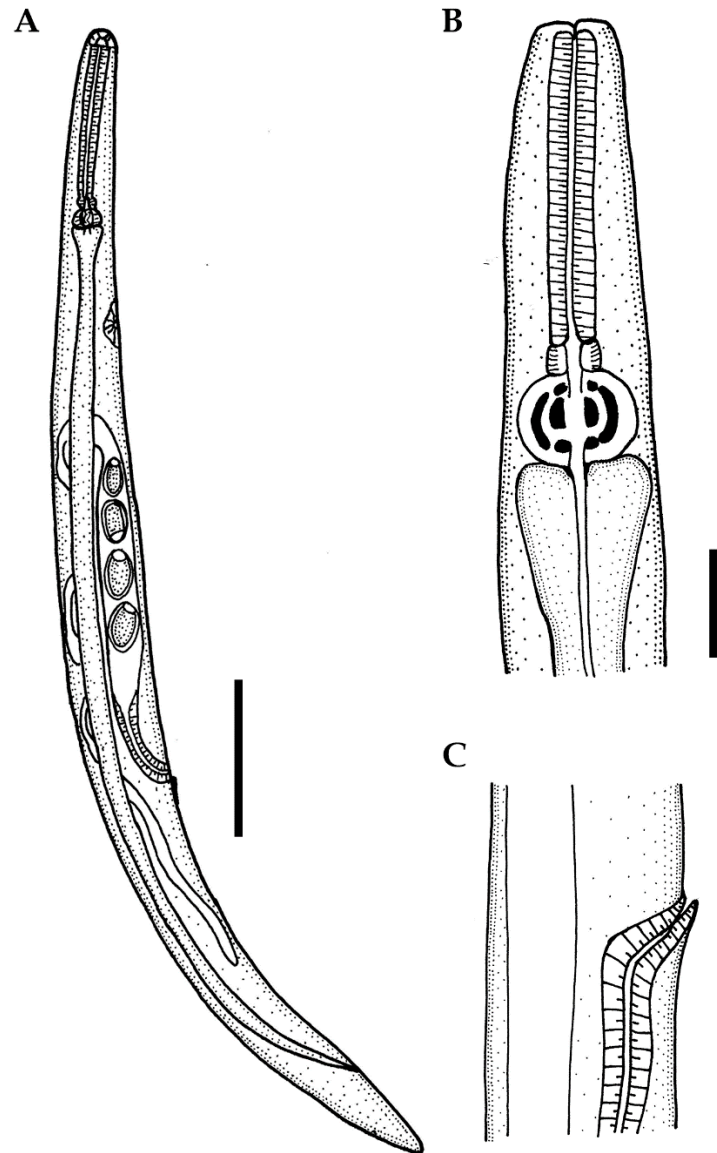


Figura 26: Pharyngodonidae gen. sp. indet. Individuo completo (A) (Escala 200 μm), detalle extremo anterior (B) y vulva (C) en vista lateral. Escalas 100 μm .

Spirurida Chitwood, 1933

Camallanidae Railliet & Henry, 1915

La Familia Camallanidae está compuesta por dos subfamilias (Camallaninae y Procamallaninae) que se diferencian por la morfología de la cápsula bucal. Dentro de Camallaninae los géneros *Camallanus* y *Serpinema* se pueden diferenciar por el patrón de los *ridges* en la cápsula bucal, los cuales pueden disponerse de manera continua o estar separados en ventrales y dorsales.

Camallanus Railliet & Henry, 1915

Camallanus n. sp. 1

Descripción general (basada en cinco machos y tres hembras grávidas; Fig. 27, Tabla 12). Nematodes de tamaño mediano, color blanco, con una cutícula estriada longitudinalmente. Abertura bucal, dorsoventralmente elongada, rodeada por cuatro papilas cefálicas, ánfidos no observados. Cápsula bucal de color marrón, comprimida lateralmente, con un anillo basal esclerotizado, bien desarrollado y dos valvas laterales. Cada valva bucal está compuesta por 10-13 *ridges* longitudinales, separados en tres grupos: dorsales (4-5 *ridges*), medios (3 *ridges*) y ventrales (3-5 *ridges*), de tamaño variable. De tres a cuatro *ridges* incompletos por espécimen, pero todos tienen un *ridge* medio completo. Dos tridentes prominentes localizados en la parte dorsal y ventral de la cápsula bucal, cada uno con tres prolongaciones posteriores, de igual tamaño, que se extienden por detrás del anillo basal. Anillo nervioso posterior a los tridentes, envolviendo la parte anterior del esófago muscular. Esófago dividido en dos porciones, la anterior muscular y la posterior glandular, en contacto con el intestino. Poro excretor posterior al anillo nervioso, ubicándose en la intersección de las dos partes del esófago. Los deiridos son pequeños, laterales, posteriores al anillo nervioso y anteriores al poro excretor.

Machos (medidas del holotipo, Figs. 27 A-F). Cuerpo de 8,1 mm largo y 260 de ancho. Valvas de la cápsula bucal más anchas 120 que largas 90; anillo basal de 18 x 60. Tridentes bien desarrollados de 105 de largo. Esófago muscular de 450 de largo y glandular de 550; largo total del esófago 1000. Anillo nervioso, deiridos y poro excretor a 290, 350 y 475 del extremo anterior, respectivamente. Extremo posterior curvado, ala caudal bien desarrollada. Trece pares de papilas pedunculadas ventrales: siete pares pre cloacales; dos pares ad cloacales; cuatro pares post cloacales (las primeras 3 pares están agrupadas cerca de la cloaca y separadas del cuarto par). Un par de fasmidios situados cerca de la punta de la cola. Espículas de diferentes tamaños, la espícula derecha muy esclerotizada de 380 largo, con forma de bota al final y con una punta aplanada, la espícula izquierda poco esclerotizada de 185 largo, con el extremo distal puntiagudo. Gubernáculo ausente.

Hembras (medidas del alotipo, Figs. 27 G-I). Cuerpo de 9,14 mm largo, 550 de ancho. Valvas de la cápsula bucal más anchas 143 que largas 103; anillo basal 19 x 72. Tridentes 95 de largo. Esófago muscular de 430 largo y glandular de 700 de largo; largo total 1130. Anillo nervioso, deiridos y poro excretor a 295, 339 y 463 del extremo anterior,

respectivamente. Vulva y labio vulvar, localizado a 4,60 mm del extremo caudal, puede variar en tamaño y forma. Vagina dirigida anteriormente, anfidelfas, vivíparas. Cola cónica de 180 largo, elongada, con tres *mucrons* y un par de fasmidios.

Cuarto estadio larval (basada en dos especímenes). Cuerpo de pequeño tamaño (1650–1710 largo, 60–65 ancho). Cápsula bucal con *ridges* continuos longitudinales que van desde el margen anterior al posterior; anillo basal no desarrollado. Esófago muscular y glandular con paredes muy finas; con un fuerte revestimiento interno cuticular. Cola cónica, que comprende un 7% del largo total del cuerpo, termina en 3 *mucrons* rudimentarios y poco esclerotizados. Caracteres sexuales indiferenciables.

Hospedador tipo: *Acanthochelys pallidipectoris*.

Otros hospedadores: *Phrynosops hilarii*.

Sitio de infección: estómago e intestino.

Localidad tipo: Vera, Santa Fe, Argentina.

Otras localidades: Arroyo Salto, Aldea Brasilera, Entre Ríos, Argentina.

Secuencia GenBank: MN936176

Comentarios: Se reconocen 20 especies de *Camallanus*, siete fueron descritas en tortugas; cinco de ellas se registraron en Australia, *C. beveridgei* Kuzmin, Tkach, Snyder & Bell, 2011, *C. nithoggi* Rigby & Sharma, 2008, *C. sprenti* Kuzmin, Tkach, Snyder & Bell, 2011, *C. tuckeri* Kuzmin, Tkach, Snyder & Maier, 2009 y *C. waellhreow* Rigby & Sharma, 2008; una de África: *C. chelonius* Baker, 1982, y una de América del Sur: *C. emydidius*. *Camallanus* n. sp. 1 se puede distinguir fácilmente de *C. emydidius* por la cantidad de *ridges* longitudinales (10–13 vs 12–17) y por la morfología de la espícula derecha (extremo con forma de bota vs extremo en punta). *Camallanus* n. sp. 1 se diferencia de todas las especies de Australia por la presencia de *mucrons* en la cola de la hembra, y por la morfología de la punta de la espícula derecha (forma de bota vs simple en punta). *Camallanus* n. sp. 1 se distingue de *C. chelonius* por el número de *ridges* longitudinales (10–13 vs 9–10), por la distribución de las papilas caudales en el macho (13–7:2:4 vs 12–6:2:4*) y por la morfología de la espícula derecha (forma de bota vs forma de gancho) *(papilas totales – precloacales: adcloacales: postcloacales).

Aunque las especies de *Serpinema* se caracterizan por tener los *ridges* longitudinales separados en dorsales y ventrales, algunas especies con *ridges* continuos se incluyeron

dentro de este género. Se registraron cinco especies de *Serpinema* en tortugas de América del Sur. *Camallanus* n. sp. 1 se distingue de *S. kachugae* Baylis & Daubney, 1922 por tener mayor número de *ridges* continuos (10–13) vs *ridges* separados por un *gap* medio (8–10); y de *S. amazonicus*, *S. cayennensis*, *S. magathi* Sprehn, 1932 y *S. monospiculatus* Freitas & Dobbin Jr., 1962 por el número y distribución de papilas caudales en los machos (13–7:2:4 vs 9–7:0:2; 13–6:2:5; 14–7:0:7; y 10–6:1:3, respectivamente). Adicionalmente, *Camallanus* n. sp. 1 tiene la espícula derecha aplanada en el extremo distal, mientras que en *S. amazonicus* y *S. magathi* es bífida. Finalmente, *Camallanus* n. sp. 1 tiene dos espículas mientras que *S. magathi* y *S. monospiculatus* tienen solo una.

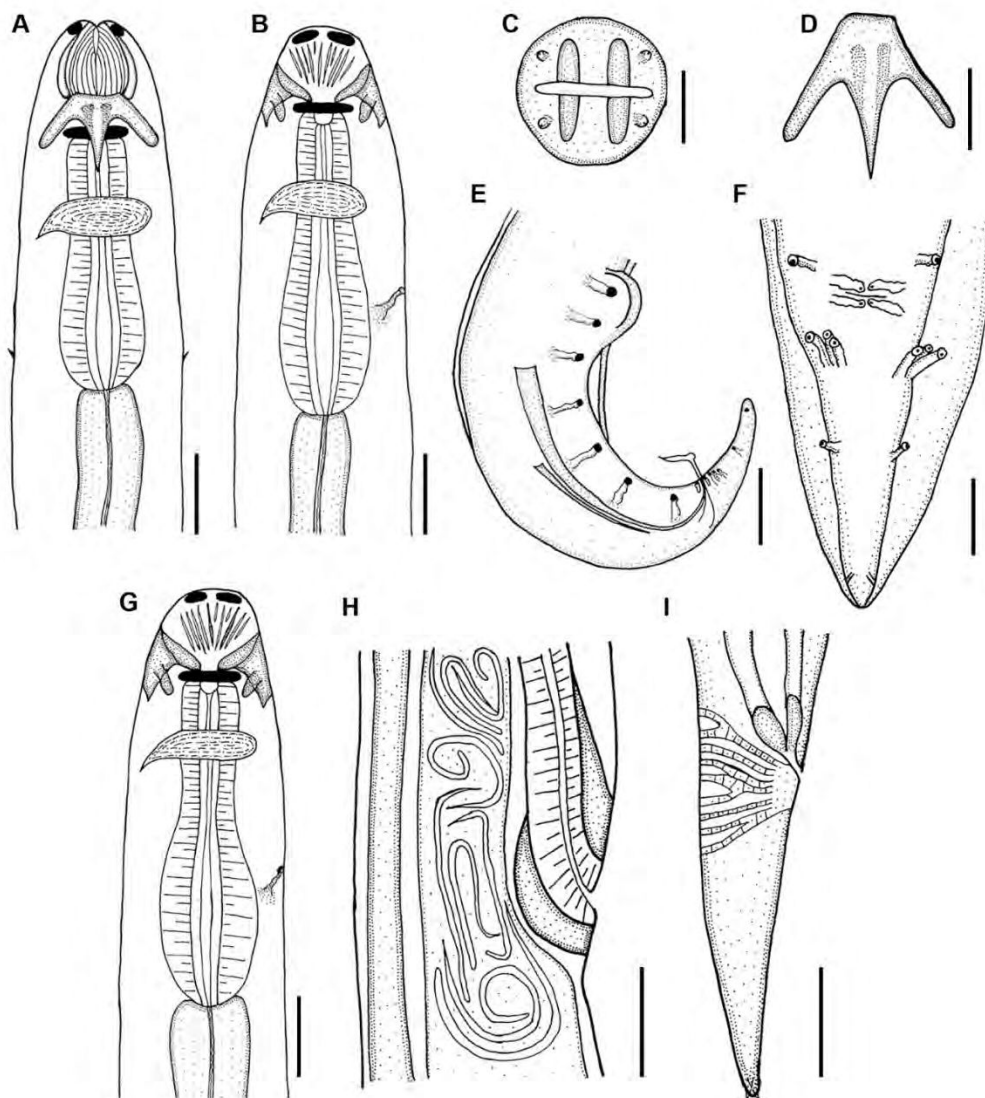


Figura 27: *Camallanus* n. sp. 1 (A) extremo anterior del macho, vista dorsal y (B) vista ventral. (C) vista apical (escala 50 μ m). (D) *tridents* (escala 50 μ m). (E) extremo caudal del macho, vista lateral y (F) vista ventral. (G) extremo anterior de la hembra. (H) vulva, vista lateral. (I) extremo caudal de la hembra, vista lateral. Escalas 100 μ m.

Camallanus n. sp. 2

Descripción general (basada en cinco machos y tres hembras grávidas; Fig. 28, Tabla 12). Nematodes de tamaño mediano, color blanco, con cutícula estriada longitudinalmente. Abertura bucal rodeada de cuatro papilas cefálicas. Cápsula bucal de color marrón, compuesta por un anillo basal y dos valvas laterales, cada una con 11-13 *ridges* longitudinales, separados en tres grupos: dorsales (4-5 *ridges*), medios (3 *ridges*) y ventrales (4-5 *ridges*), de tamaños variables. Dos tridentes prominentes con prolongaciones, de igual longitud, que se dirigen posteriormente alcanzando el anillo nervioso, ubicados dorsal y ventralmente en la cápsula bucal. Esófago está dividido en una parte anterior muscular y una posterior glandular. Deiridos ubicados entre el anillo nervioso y el poro excretor.

Machos (medidas del holotipo, Figs. 28 A-F). Cuerpo de 9,19 mm largo y 236 de ancho. Valvas de la cápsula bucal más anchas 141 que largas 98; anillo basal de 20 x 72. Tridentes bien desarrollados de 115 de largo. Esófago muscular de 438 de largo y glandular de 633; largo total del esófago 1071. Anillo nervioso, deiridos y poro excretor a 370, 569 y 610 del extremo anterior, respectivamente. Extremo posterior curvado, ala caudal bien desarrollada. Doce pares de papilas pedunculadas ventrales: siete pares pre cloacales; dos pares ad cloacales; tres pares post cloacales. Un par de fasmidios situados cerca de la punta de la cola. Espículas de diferentes tamaños, la espícula derecha muy esclerotizada de 372 largo, con forma serpenteante al final y extremo puntiagudo, la espícula izquierda poco esclerotizada de 181 largo, con el extremo distal puntiagudo. Governaculum ausente.

Hembras (medidas del alotipo, Figs. 28 G-I). Cuerpo de 9,40 mm largo, 340 de ancho. Valvas de la cápsula bucal más anchas 165 que largas 115; anillo basal 20 x 84. Tridentes 119 de largo. Esófago muscular de 502 y glandular de 631 de largo; largo total 1133. Anillo nervioso, deiridos y poro excretor a 320, 610 y 640 del extremo anterior, respectivamente. Vulva y labio vulvar, localizado a 6,53 mm del extremo caudal, los labios vulvares de igual tamaño. Vagina dirigida anteriormente, anfidelfas, vivíparas. Cola cónica de 154 largo, elongada, con tres *mucrons* y un par de fasmidios.

Hospedador tipo: *Acanthochelys spixii*.

Otros hospedadores: *Phrynops hilarii*.

Sitio de infección: estómago e intestino.

Localidad tipo: Bella Vista, Corrientes, Argentina.

Comentarios: La nueva especie se puede distinguir fácilmente de *C. emydidius* por el número (11-13 vs 12-17) y la forma de los *ridges* longitudinales (completos vs incompletos), por el número y distribución de las papilas caudales (12-7:2:3 vs 13-7:2:4) y por la morfología de la espícula derecha (serpenteante vs recta). *Camallanus* n. sp. 2 se diferencia de todas las especies australianas por la presencia de *mucrons* en la cola de las hembras y por la morfología de la espícula derecha (serpenteante vs derecha). *Camallanus* n. sp. 2 se diferencia de *C. chelonius* por la distribución de las papilas caudales (12-7:2:3 vs 12-6:2:4) y por la morfología de la espícula derecha (serpenteante vs ganchosa). Si la comparamos con las especies del género *Serpinema*, *Camallanus* n. sp. 2 se diferencia de *S. kachugae* en el número (11-13 vs 8-10) y morfología (continuos vs discontinuos) de los *ridges* longitudinales, y de *S. amazonicus*, *S. cayennensis*, *S. magathi* y *S. monospiculatus* en el número y distribución de las papilas caudales (12-7:2:3 vs 9-7:0:2; 13-6:2:5; 14-7:0:7; y 10-6:1:3, respectivamente). Adicionalmente, *Camallanus* n. sp. 2 presenta la espícula derecha con punta simple a diferencia de *S. amazonicus* y *S. magathi* cuya espícula derecha tiene punta bífida. Además, *Camallanus* n. sp. 2 tiene dos espículas, mientras que *S. magathi* y *S. monospiculatus* tiene solo una. Finalmente, *Camallanus* n. sp. 2 se diferencia de *Camallanus* n. sp. 1 por el número y distribución de las papilas caudales (12-7:2:3 vs 13-7:2:4) y por la morfología de la espícula derecha (serpenteante vs forma de bota). Además, en las hembras de *Camallanus* n. sp. 2 el útero alcanza la parte posterior del esófago. Si bien *Camallanus* n. sp. 2 y *Camallanus* n. sp. 1 se encontraron parasitando a la misma especie hospedadora, *P. hylarii*, las diferencias morfológicas y los diferentes ambientes (Chaco húmedo vs. Esteros del Iberá) donde se registraron son características que separan a estas dos especies.

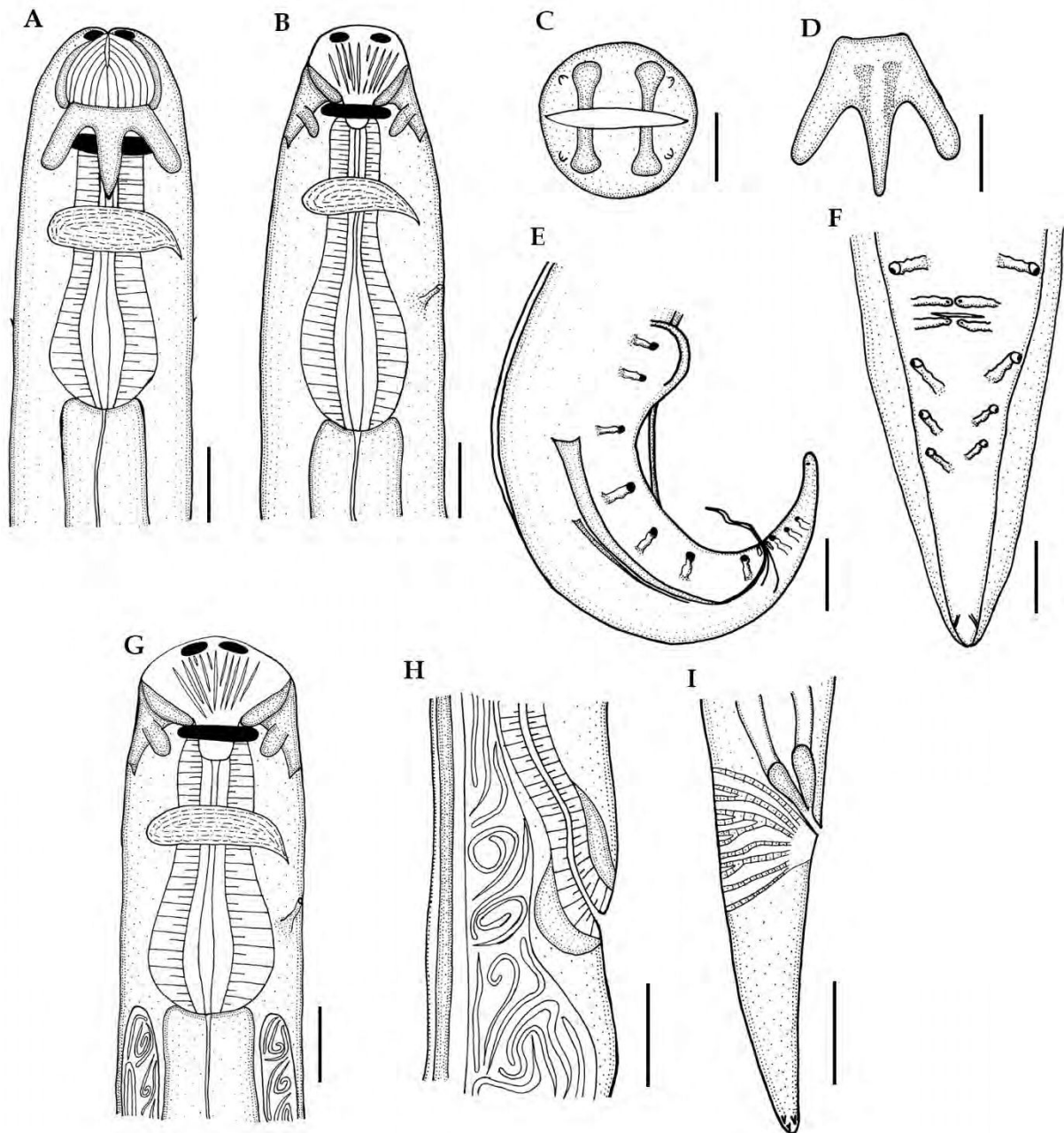


Figura 28: *Camallanus* n. sp. 2 (A) extremo anterior del macho, vista dorsal y (B) vista ventral. (C) vista apical (escala 50 μ m). (D) *tridents* (escala 50 μ m). (E) extremo caudal del macho, vista lateral y (F) vista ventral. (G) extremo anterior de la hembra. (H) vulva, vista lateral. (I) extremo caudal de la hembra, vista lateral. . Escalas 100 μ m.

Camallanus emydidius Mascarenhas & Müller, 2017

Diagnosis: La disposición de los *ridges* en la capsula cefálica, el número y distribución de las papilas caudales (13-7:2:4) y la morfología de las espículas en los machos y la morfología de la vulva y la cantidad de *mucrons* en las hembras, ubican a estos individuos dentro de la especie *C. emydidius* (Fig. 29, Tabla 12).

Hospedador: *Trachemys dorbigni*.

Sitio de infección: intestino.

Localidad: Concordia, Entre Ríos, Argentina.

Material estudiado: Se analizaron las vísceras de dos *T. dorbigni* provenientes de la localidad de Concordia, Entre Ríos.

Comentarios: *Camallanus emydidius* fue descrita originalmente parasitando a *T. dorbigni* en el estado de Rio Grande do Sul, Brasil (Mascarenhas & Müller 2017) y luego se la registró en *H. tectifera* en la misma localidad (Chaviel *et al.* 2020). Este es el primer registro de un nematode parasitando esta especie de tortuga en Argentina.

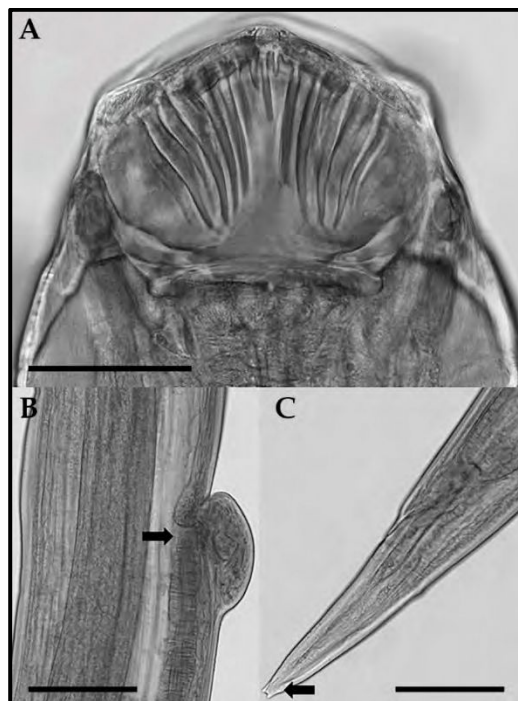


Figura 29: Microfotografías de *Camallanus emydidius*. (A) cápsula bucal, vista lateral (escala 50 µm). (B) vulva, vista lateral (vulva resaltada). (C) extremo posterior, vista lateral (mucrones resaltados). Escalas 100 µm.

***Camallanus* sp.**

Descripción general (basada en tres hembras grávidas; Fig. 30, Tabla 12). Nematodes de tamaño mediano, color blanco, con una cutícula estriada longitudinalmente. Abertura bucal rodeada de cuatro papilas cefálicas. Cápsula bucal de color marrón, compuesta por un anillo basal y dos valvas laterales, cada una con 10 *ridges* longitudinales, separados en tres grupos: dorsales (4 *ridges*), medios (2 *ridges*) y ventrales (4 *ridges*), de tamaños variables. Dos tridentes prominentes con prolongaciones de igual longitud, que se dirigen posteriormente alcanzando el anillo nervioso, ubicados dorsal y ventralmente en la cápsula bucal. Esófago está dividido en una parte anterior muscular y una posterior glandular. Deiridos se ubican entre el anillo nervioso y el poro excretor. Vulva y labios vulvares muy bien desarrollados. Vagina dirigida posteriormente, anfidelfas, vivíparas. Cola larga de forma cónica, con dos *mucrons* y un par de fasmidios en la punta.

Hospedador: *Kinosternon scorpioides*.

Sitio de infección: Intestino. Recuperados de regurgitados y muestras de materia fecal.

Localidad: Alrededores de Miraflores, Chaco, Argentina.

Material estudiado: Se revisaron los contenidos estomacales de ocho *K. scorpioides* de la provincia de Chaco.

Secuencia GenBank: MZ615340.

Comentarios: La ausencia de macho hace imposible la identificación a nivel específico de estos individuos. Sin embargo, características morfológicas de las hembras (vulva bien desarrollada y dos *mucrons*) se asemejan a *S. magathi*, previamente descrita para *K. scorpioides* en Bolivia (Sprehn 1932). El hecho de que estos nematodes se encuentren parasitando la misma especie hospedadora y en un rango geográfico tan cercano podría indicar que pertenecen a la especie *S. magathi*. Yeh (1960) transfirió a *S. magathi* del género *Camallanus* al género *Serpinema*, por presentar una división entre los *ridges* dorsales y ventrales y por ser parásitas de reptiles. Sin embargo, Freitas & Dobbin Jr. (1971) y Mascarenhas & Müller (2017) rechazaron la propuesta de Yeh (1960) ya que no observaron ninguna división entre los *ridges*. Por esta razón, *S. magathi* debería ser considerada dentro del género *Camallanus*.

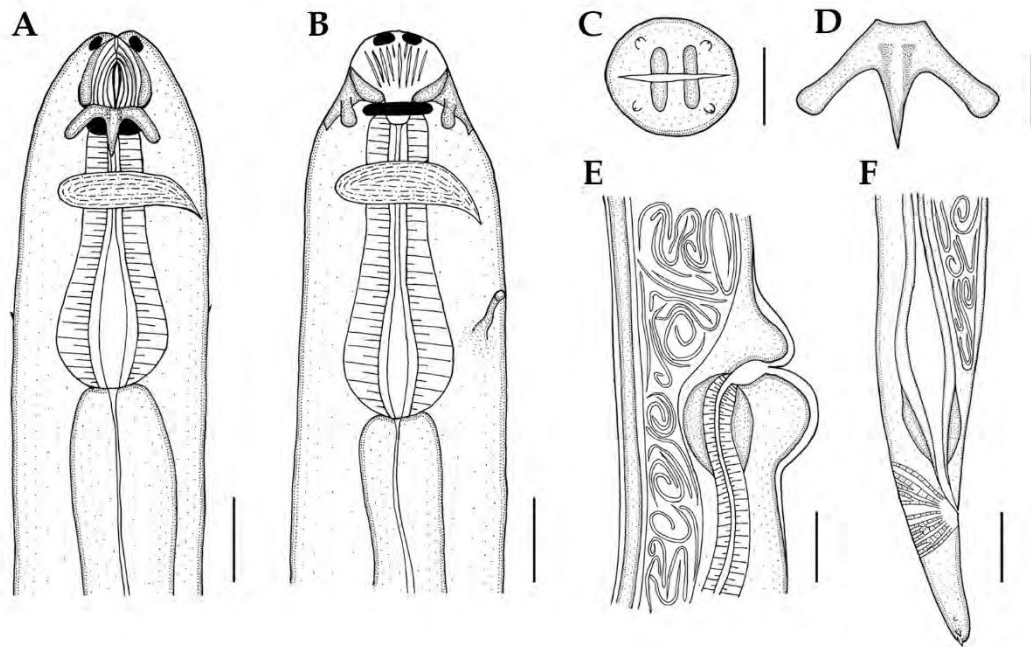


Figura 30: *Camallanus* sp. (A) Vista dorsal del extremo anterior, (B) vista lateral, (C) vista apical (escala 50 μm), (D) tridentes (escala 50 μm), (E) vulva, vista lateral, (F) extremo caudal, vista lateral. Escalas 100 μm .

Serpinema Yeh, 1960

Serpinema sp.

Descripción general (basada una hembra grávida; Fig. 31, Tabla 12). Nematodes de tamaño mediano, color blanco, cutícula estriada longitudinalmente. Abertura bucal rodeada de cuatro papilas cefálicas. Cápsula bucal de color marrón, compuesta por un anillo basal y dos valvas laterales, cada una con 11 *ridges* longitudinales, separados en dos grupos: dorsales (5 *ridges*) y ventrales (5-6 *ridges*), de tamaños variables. Dos tridentes prominentes con prolongaciones de igual longitud, que se dirigen posteriormente alcanzando el anillo nervioso, ubicados dorsal y ventralmente en la cápsula bucal. Esófago está dividido en una parte anterior muscular y una posterior glandular. Deiridos ubicados entre el anillo nervioso y el poro excretor. Los labios vulvares están poco desarrollados. Vagina dirigida anteriormente, anfidelfas, vivíparas. Cola larga de forma cónica, con cuatro *mucrons* y un par de fasmidios en la punta.

Hospedador: *Kinosternon scorpioides*.

Sitio de infección: intestino delgado.

Localidad: Formosa, Argentina.

Material estudiado: Se analizaron las vísceras de una *K. scorpioides* de la provincia de Formosa, no se cuenta con la localidad exacta.

Comentarios: La clara diferenciación entre los *ridges* dorsales y ventrales los ubican a estos ejemplares dentro del género *Serpinema*. *Serpinema* sp. difiere de *S. kachugae* por el tamaño de la vulva (poco desarrollada *vs* muy desarrollada) y por la cantidad de *mucrons* (4 *vs* 2). La ausencia de machos y la falta de material para realizar análisis moleculares dificultan la identificación a nivel específico de los especímenes.

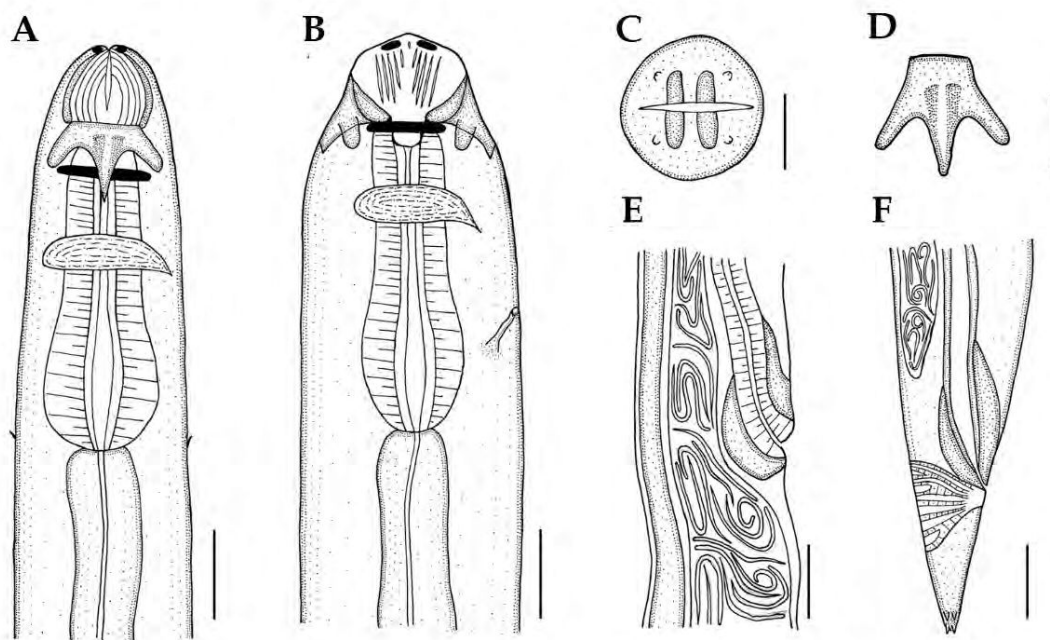


Figura 31: *Serpinema* sp. (A) Vista dorsal del extremo anterior, (B) vista lateral, (C) vista apical (escala 50 μm), (D) tridentes (escala 50 μm), (E) vulva, vista lateral, (F) extremo caudal, vista lateral. Escalas de 100 μm .

Tabla 12: Parámetros poblacionales de las especies de Camallaninae por localidad. N_H = Número de hospedadores analizados; *a partir de vísceras, **a partir de regurgitados y fecas. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N _H	P	A	IM	Localidad
Camallanus n. sp. 1					
<i>A. pallidipectoris</i>	18**	16,66%	4	1,33	Santa Fe
	1*	100%	1	1	Santa Fe
<i>P. hilarii</i>	7*	16,66%	6	6	Entre Ríos
Camallanus n. sp. 2					
<i>A. spixii</i>	1*	100%	6	6	Corrientes
<i>P. hilarii</i>	1*	100%	5	5	Corrientes
Camallanus emydidius					
<i>T. dorbignii</i>	2*	50%	3	3	Entre Ríos
Camallanus sp.					
<i>K. scorpioides</i>	8**	12,50%	3	3	Chaco
Serpinema sp.					
<i>K. scorpioides</i>	1*	100%	1	1	Formosa

Análisis moleculares

Las topologías del árbol 18S resultantes de los análisis Máxima Verosimilitud (ML) y Bayesiano (BI) fueron similares (Fig. 31). Ambos métodos de reconstrucción filogenética mostraron dos grupos principales: El clado A, que agrupa especies de Camallaninae y Procamallaninae, y el clado B, que incluye únicamente especies de Procamallaninae. Los aislados de *Spirocamallanus rarus* (JF803912) y *Spirocamallanus huacraensis* (MK794615) formaron un grupo separado (clado C). Estos aislados se encontraron parasitando a hospedadores de Siluriformes de países sudamericanos. Los análisis filogenéticos también mostraron que nuestro aislado de *Camallanus n. sp. 1* forma un clado bien apoyado con el aislado de *Camallanus sp.* obtenido de *K. scorpioides* en el presente estudio. Todas las especies de *Camallanus* incluidas en el análisis se agruparon en un clado monofilético sin un patrón geográfico claro. Sin embargo, todas las especies de este clado se encontraron parasitando hospedadores del mismo hábitat, es decir, peces y tortugas de agua dulce.

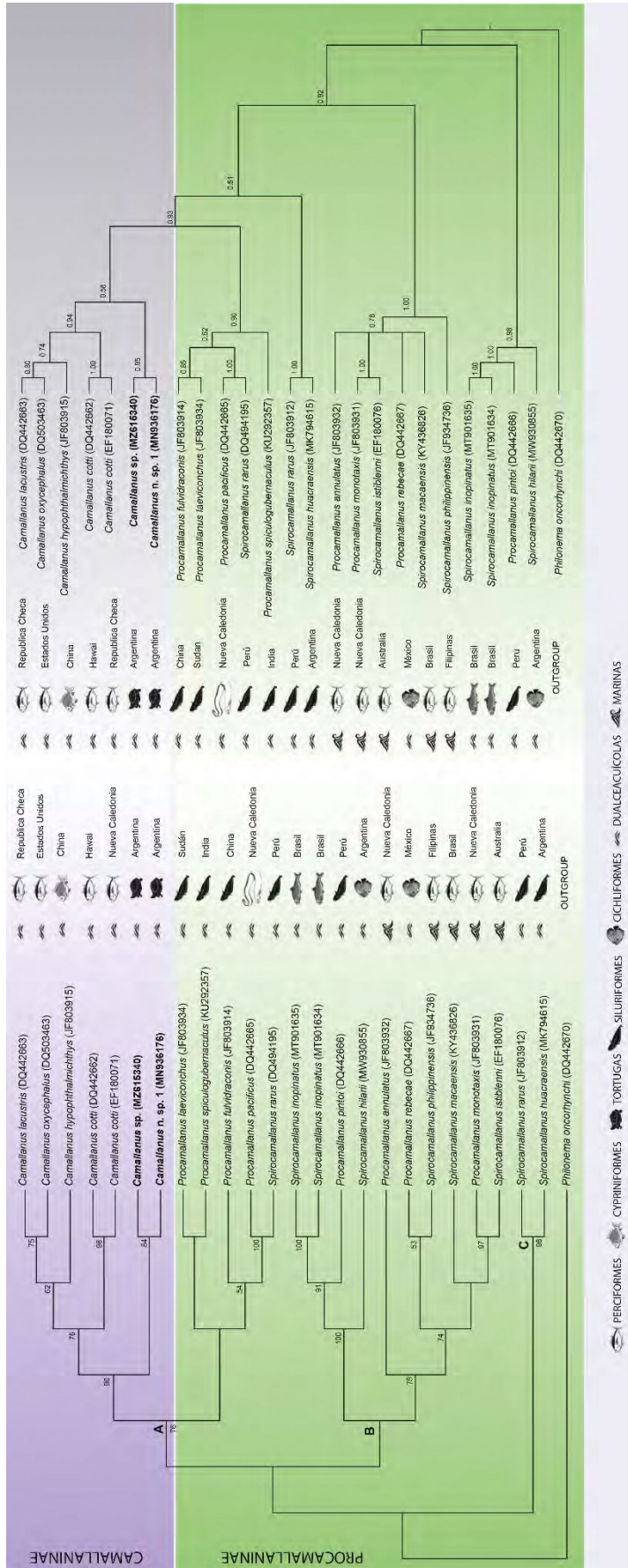


Figura 31. Relación filogenética entre las especies de Camallanidae inferida a partir de las secuencias de 18S ADNr (857 pb) analizadas por: (a) métodos de Máxima Verosimilitud (ML) y (b) Bayesiano (>0.50) y el bootstrap ML (>50). Las secuencias obtenidas en el presente estudio están en negrita

La comparación de secuencias por pares de un fragmento de 857 pb en el extremo 5' del gen 18S de *Camallanus* n. sp. 1 y de otras cinco especies conocidas de *Camallanus* procedentes de peces de agua dulce y marinos apoyó el estatus de *Camallanus* n. sp. 1 como nueva especie, y también la cercanía de *Camallanus* sp. a la nueva especie. La filogenia del gen 18S muestra que las especies de *Camallanus* constituyen un grupo monofilético, destacando las diferencias entre las dos subfamilias de Camallanidae. Además, la reconstrucción filogenética pone de manifiesto la naturaleza parafilética de los géneros *Procamallanus* y *Spirocamallanus*. Estos resultados son consistentes con estudios anteriores que también sostienen que el género *Camallanus* es un conjunto monofilético totalmente apoyado en los árboles del conjunto de datos 18S y que también encontraron parafilia dentro de la familia Procamallaninae (Chaudhary *et al.* 2017; da Silva Pinheiro *et al.* 2018; Alilán-Choke *et al.* 2021).

Las diferencias observadas entre el árbol filogenético proporcionado por Alilán-Choke *et al.* (2021) y nuestro árbol podrían deberse a la inclusión de algunas secuencias diferentes en el análisis, como el aislado *S. rarus* (DQ494195).

Gnathostomatidae Railliet, 1895

Spiroxys Schneider, 1866

Spiroxys contortus (Rudolphi, 1819)

Diagnosis: Abertura oral rodeada de dos labios trilobulados (Fig. 33 A), el lóbulo medio presenta un “diente” truncado en su ápice. Los deiridos se ubican posteriormente al poro excretor. Machos con cuatro pares de papilas pre cloacales y siete pares post cloacales (Fig. 33 B). Espículas de igual tamaño, soportadas por un *gubernaculum* cuticular. Vulva cuticular, ubicada posterior a la mitad del cuerpo. Vagina dirigida anteriormente, anfidelfas, ovíparas.

Hospedadores: *Hydromedusa tectifera*, *Phrynosoma hilarii* y *Trachemys dorbignii*.

Sitio de infección: Libres y enquistados en las paredes del estómago e intestino.

Localidad: Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos y Santa Fe.

Material estudiado: Tabla 13.

Secuencia GenBank: MN629933.

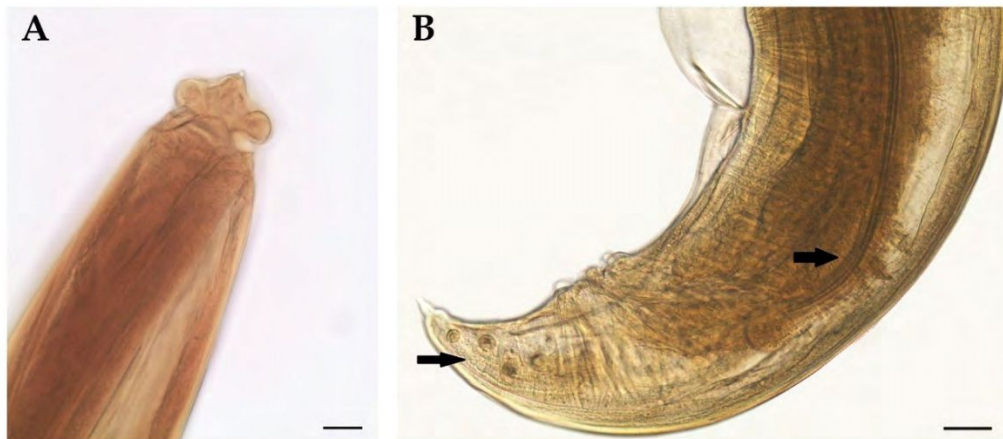


Figura 33: Microfotografías de las características diagnósticas de *Spiroxys contortus*. (A) extremo anterior, vista lateral (B) Extremo caudal del macho, vista lateral, mostrando las espículas y las papilas caudales (flechas). Escalas 50 μ m.

Tabla 13: Parámetros poblacionales de *Spiroxys contortus* por localidad. N_H = Número de hospedadores; *muestras de vísceras, **muestras de regurgitados y fecas. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Hospedador	N _H	P	A	IM	Localidad
<i>H. tectifera</i>	121**	20,68%	36	1,44	Buenos Aires
	11*	45,45%	56	11,40	Buenos Aires
	154**	22,72%	217	6,22	Córdoba
	1*	100%	31	31	Córdoba
<i>P. hilarii</i>	71**	14,08%	33	3,40	Buenos Aires
	5*	60%	27	9,33	Buenos Aires
	1*	100%	20	20	Corrientes
	7*	57,14%	6	1,50	Entre Ríos
	7*	85,51%	11	1,90	Santa Fe
<i>T. dorbigni</i>	2*	50%	2	2	Entre Ríos

Comentarios: Esta especie fue registrada previamente en *A. spixii*, *H. tectifera*, *P. hilarii* y *T. dorbigni* solamente en Brasil (Mascarenhas & Müller 2021). Los presentes hallazgos permitieron realizar el primer registro geográfico de la especie en Argentina (Palumbo *et al.* 2016). El gen ribosomal 18S de *S. contortus* de una *Hydromedusa tectifera* de Buenos Aires pudo secuenciarse parcialmente. La comparación con secuencias obtenidas de ejemplares hallados en la tortuga europea *Emys orbicularis* (L.) en Polonia, permitió identificar que se trata de la misma especie, confirmando el amplio rango geográfico de *S. contortus* y la capacidad de adaptarse a diferentes ambientes y hospedadores (Demkowska-Kutrzepa *et al.* 2021).

Hedruridae Railliet, 1916

Hedruris Nitzsch, 1821

Las especies del género *Hedruris* son parásitas de anfibios, lampreas, peces y reptiles, comúnmente ubicándose en el estómago y en la parte anterior del intestino. Las hembras son características de la especie por poseer un gancho en el extremo posterior por el cual se anclan al hospedador y los machos se suelen encontrar enrollados a las hembras. A partir de este trabajo se hallaron dos especies de este género:

Hedruris dratini Palumbo & Diaz, 2020

Descripción general (basada en 40 especímenes, Fig. 34, Tabla 14): Cutícula fina, estriada transversalmente. Extremo cefálico compuesto por dos pseudolabios largos, cada uno con un par de papilas digitiformes apicales, un par de papilas sésiles y un par de ánfidos. Dorsal y ventralmente se ubican los interlabios, cada uno con un lóbulo que se dirige anteriormente, cubriendo la superficie de la región apical, y dos estructuras laterales bifurcadas cuticulares. Cada pseudolabio e interlabio está soportado en su base por un *ridge* cuticular. Cavidad bucal poco cuticular, apical. El esófago no está claramente dividido en muscular y glandular. Deiridos simples, situados al mismo nivel que el poro excretor, justo posterior al anillo nervioso.

Machos (basado en 20 especímenes, Figs. 34 A-B y 35 A-C): Largo del cuerpo 5,97 (3,64–9,24) mm, ancho máximo del cuerpo 203 (138–275). Esófago 1,07 (0,80–1,27) mm de largo. Deiridos, poro excretor y anillo nervioso a 200 (148–245), 220 (168–265) del extremo anterior, respectivamente. Extremo posterior del cuerpo generalmente enrollado sobre sí mismo de una a tres veces. Nueve pares de papilas caudales: ocho pares sub ventrales y un par lateral, situadas entre las últimas dos pares de papilas sub ventrales. Un par de fasmidios ventro-laterales, posteriores a las papilas laterales. Espículas de 182 (169–233) largo, bien esclerotizadas, fusionadas en el extremo posterior, formando una membrana quitinosa. Sin *gubernaculum*.

Hembras (basado en 20 hembras grávidas, Figs. 34 C-E y 35 D): Largo del cuerpo 9,10 (7,09–10,94) mm, ancho máximo del cuerpo 424 (215–571). Esófago 1,7 (1,30–1,80) mm de largo. Deiridos, poro excretor y anillo nervioso a 270 (252–285), 295 (275–340) del extremo anterior, respectivamente. Vulva ubicada a 716 (465–1127) del ano. Cola bulbosa, curvada

dorsalmente, armada con un gancho esclerotizado eversible. Espinas cuticulares cubren la región posterior del cuerpo. Didélficas, prodélficas. Huevos mamelonados de 36 (27-41) de largo por 19 (13-24) de ancho, operculados en ambos polos.

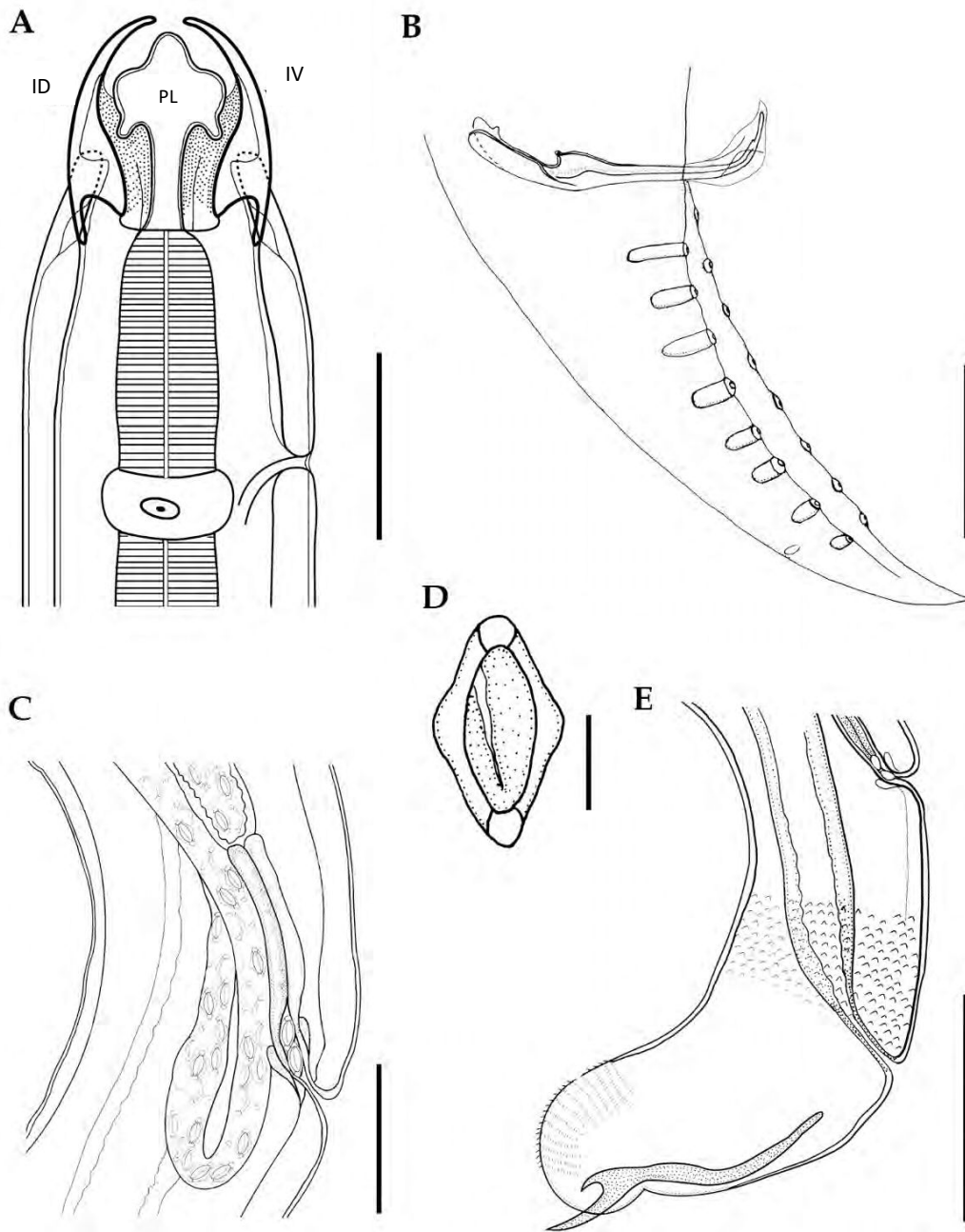


Figura 34: *Hedruris dratini* (A) Extremo anterior de la hembra, vista lateral. (B) extremo caudal del macho, vista sublateral. (C) vulva de la hembra, vista lateral. (D) huevo. (E) extremo posterior de la hembra, vista lateral. Escalas: (A, B) 100 μ m; (C) 200 μ m; (D) 20 μ m; (E) 500 μ m. Abreviaturas: PL pseudolabio lateral. ID interlabio dorsal. IV interlabio ventral.

Subadulto (basada en 23 especímenes): Las características anatómicas en este estadio son iguales a los adultos, solo varía el tamaño y diferenciación de los órganos reproductores.

Cuarto estadio larval (basada en un espécimen, Fig. 36): Extremo cefálico poco desarrollado, con interlabios y pseudolabios, pero sin *ridges* esclerotizados basales. Tracto digestivo simple finalizado en el ano, no se diferencian las diferentes secciones. Cutículas de mudas previas acumuladas en el extremo caudal. Machos larvales con un testículo bien desarrollado y con un esbozo primordial de las espículas.

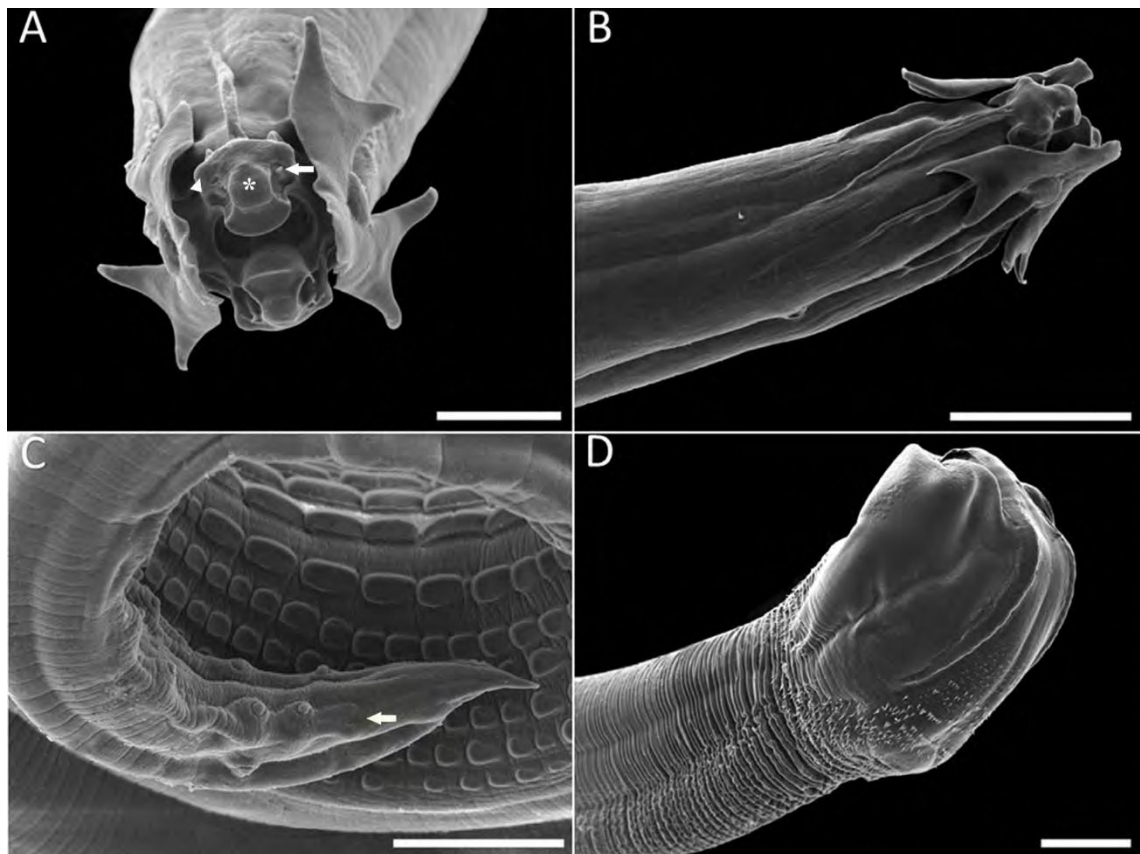


Figura 35: Micrografías tomas con MEB de *Hedruris dratini* (A) Vista apical del macho (punta de flecha: papila sésil; flecha: papila digitiforme; asterisco: ánfigo); (B) extremo anterior del macho, vista sublateral. (C) extremo posterior del macho, vista ventral (flecha: fásmido). (D) extremo posterior de la hembra, vista subdorsal. Escala 100 μm .

Hospedador tipo: *Hydromedusa tectifera*.

Otros hospedadores: *Phrynops hilarii*.

Hospedador intermediario: *Hyalella bonariensis* Freitas dos Santos, Araujo & Bond-Buckup, 2008 (Amphipoda).

Sitio de infección: Adultos en el estómago de las tortugas y larvas en el hemocele de los anfípodos.

Localidad tipo: Arroyo Rodriguez, Buenos Aires, Argentina.

Holotipo: MLP-He-7510.

Paratipos: MLP-He-7511.

Secuencias: MK928970; MN264055; MN264056; MN264057; MN264059; MN264060.

Etimología: El nombre específico "*dratini*" es una combinación arbitraria de dos palabras (dra = dragon; tini = tiny) que hace referencia a la morfología del extremo anterior.

Comentarios: *Hedruris dratini* se puede diferenciar fácilmente de todas las especies del género por la posición de los deiridos respecto al poro excretor. Ambas estructuras están ubicadas al mismo nivel en la nueva especie mientras que en el resto, el poro excretor es posterior a los deiridos. Las características que se utilizan para diferenciar entre especies de *Hedruris* son: la forma de los huevos y el número y distribución de las papilas caudales en los machos (Burse & Goldberg 2000). De las 24 especies válidas descritas, solo *H. androphora* Nitzsch, 1821, *H. siredonis* Baird, 1858 y *H. ijimai* Morishita, 1926 tienen huevos con mamelones como *H. dratini* (Baird 1858; Petter 1971; Hasegawa & Otsuru 1979). Sin embargo, los machos de *H. androphora* y *H. ijimai* poseen papilas pre cloacales y adcloacales (Petter 1971; Hasegawa & Otsuru 1979), las cuales están ausentes en la nueva especie. *Hedruris siredonis* se diferencia de la nueva especie por el número y distribución de las papilas caudales (20-2:2:16 vs 18-0:0:18).

Existen cinco especies con el mismo número y patrón de distribución de papilas caudales en los machos que en *H. dratini* (i.e. 18-0:0:18), todas con distribución Neotropical: *H. orestiae* Moniez, 1889, *H. basilichtensis* Mateo, 1971, *H. moniezi* Ibañez & Córdova, 1976, *H. suttonae* Brugni & Viozzi, 2010 y *H. bifida* Rossin & Timi, 2016 (Burse & Goldberg 2000; Rossin & Timi 2016). Sin embargo, ninguna de ellas posee huevos con mamelones. Además, las hembras de *H. moniezi* se describieron como opistodélficas y las de *H. suttonae*

y *H. bifida* como monodélficas, mientras que en *H. dratini* son didélficas, prodélficas (Ibañez & Córdova 1976; Brugni & Viozzi 2010; Rossin & Timi 2016).

Material estudiado: Tabla 14.

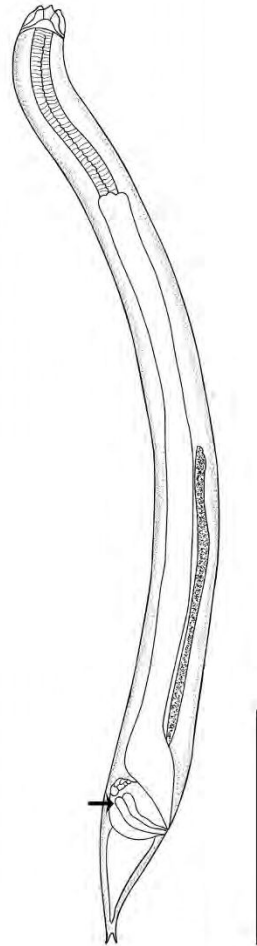


Figura 36: Larva masculina del cuarto estadio de *Hedruris dratini* con espículas primordiales (flecha), vista lateral. Escala 500 µm.

Hedruris orestiae Moniez, 1889

Diagnosis: (basada en ocho especímenes, Fig. 37): Cutícula estriada; parte anterior del cuerpo aguzado y posterior con forma de bolsa en las hembras y estilizada en los machos. Abertura bucal rodeada de cuatro labios. Labios laterales quitinosos, con el borde apical más grueso. Deiridos anteriores al poro excretor. Los machos tienen nueve pares de papilas sub ventrales (18-0:0:18). La superficie ventral pre cloacal, cubierta de protuberancias similares a escamas. Las espículas están fuertemente esclerotizadas. Las hembras son prodélficas, didélficas y la vulva se ubica en la región posterior del cuerpo.

Cuando están grávidas, el útero lleno de huevos ocupa toda la cavidad. La cola se curva dorsalmente, está armada con un gancho eversible, el cual utilizan para anclarse al hospedador. Los huevos son cilíndricos, no poseen mamelones.

Hospedadores: *Hydromedusa tectifera* y *Phrynosops hilarii*.

Hospedador intermediario: *Hyalella bonariensis* (Amphipoda).

Sitio de infección: Adultos en el estómago de las tortugas y larvas en el hemocele de los anfípodos.

Localidad: Arroyo Rodriguez, La Plata, Arroyos Buñirigo y Espinillo, Magdalena, Buenos Aires.

Material estudiado: Tabla 14.

Secuencia GenBank: MN264058.

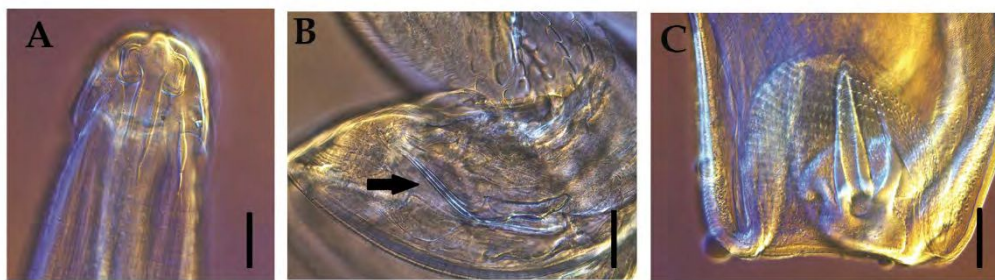


Figura 37: Fotografías con microscopía de contraste diferencial interferencial (DIC) de *Hedruris orestiae*. (A) extremo anterior. (B) Extremo posterior, vista lateral (macho), mostrando espículas (flecha). (C) Extremo posterior (hembra), detalle del gancho. Escalas 50 μ m

Tabla 14: Parámetros poblacionales de las especies de *Hedruris* por localidad. N_H = Número de hospedadores analizados; *a partir de vísceras, **a partir de regurgitados y fecas. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

	N_H	P	A	IM	Localidad
<i>Hedruris dratini</i>					
<i>H. tectifera</i>	121**	33,05%	1853	46,32	Buenos Aires
	11*	36,36%	1262	315,50	
<i>P. hilarii</i>	71**	1,40%	3	3	
<i>Hedruris orestiae</i>					
<i>H. tectifera</i>	121**	10,74%	42	3,23	Buenos Aires

Comentarios: Dyer & Carr (1990) registraron por primera y única vez una especie de *Hedruris* para una tortuga de América del Sur. Estos hallazgos son las primeras asociaciones parásito-hospedador para estas tortugas y el primer registro geográfico del género *Hedruris* para tortugas en Argentina. *Hedruris dratini* es la quinta especie válida descrita en Argentina y la primera en una tortuga como hospedador tipo.

Hedruris orestiae se registró originalmente en peces en el lago Titicaca, Perú (Moniez 1889). Moravec (1998) sugirió que algunas especies de *Hedruris*, las cuales presentan precocidad en su desarrollo larvario dentro de su hospedador intermediario (anfípodos e isópodos), son ingeridas accidentalmente por peces. Por esto mismo, *Orestias luteus* (Valenciennes, 1846), hospedador tipo de *H. orestiae*, debería ser considerado como un hospedador facultativo. El presente registro de *H. orestiae* en *H. tectifera* es el primero de la especie para una tortuga (Palumbo *et al.* 2016), grupo de vertebrados que debería ser considerado como hospedador definitivo.

Análisis moleculares

Se obtuvieron un total de seis secuencias (hasta 889 pb) de subadultos y adultos de *H. dratini*. La alineación de estas secuencias dio lugar a fragmentos de 701 pb, que presentaron un 99,43% de identidad entre ellos, un único sitio polimórfico y tres eventos de inserción/eliminación. También se obtuvo una secuencia de 840 pb de un macho subadulto de *H. orestiae*. Mediante el análisis de similitud BLAST, se confirmó la amplificación correcta del gen 18S y no se encontraron coincidencias idénticas. Las secuencias obtenidas de *H. dratini* fueron las que mejor se alinearon con *H. spinigera* del capellán de Nueva Zelanda (95-96% de identidad), seguido de *Hedruris* sp. en *T. granulosa* (salamandra) de EEUU (93-94% de identidad).

La topología del árbol (Fig. 37) mostró que los aislados de subadultos y adultos de *H. dratini* se agruparon con un alto soporte bootstrap del 99%, y muy estrechamente con el aislado de *H. orestiae* (apoyo bootstrap del 100%). Los aislados de *H. spinigera* de Nueva Zelanda se agruparon como un clado hermano (Fig. 38). Los análisis por pares mostraron que la diferencia genética entre *H. dratini* n. sp. y *H. orestiae* fue del 1,3%; entre *H. dratini* y *H. spinigera* osciló entre el 4 y el 4,1%; y entre *H. dratini* y *Hedruris* sp. de *T. granulosa* entre el 7 y el 7,20%.

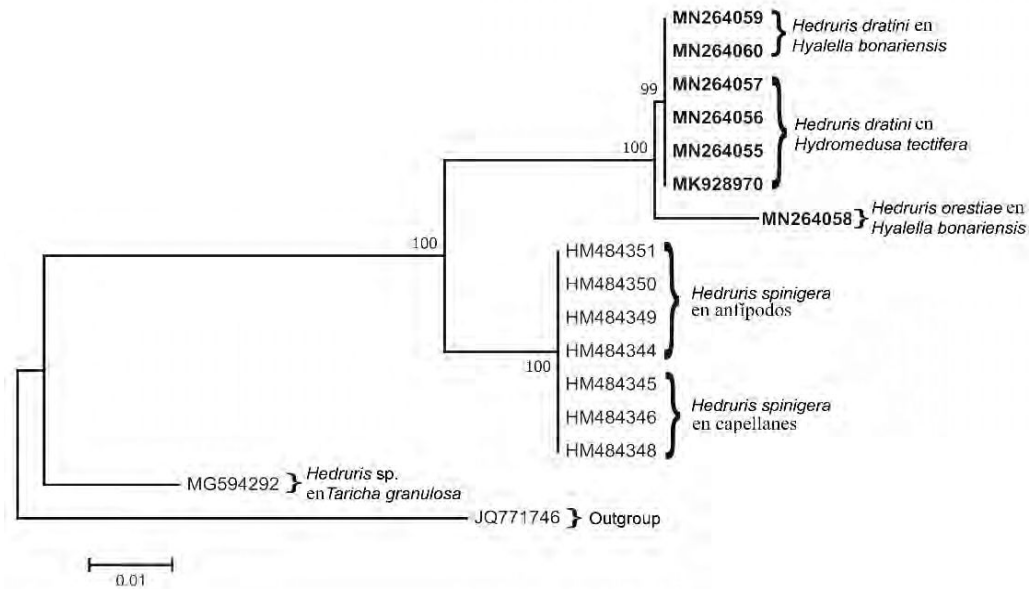


Figura 38: Árbol filogenético basado en las nuevas secuencias de ADNr de *Hedruris* obtenidas en este estudio (en negrita) comparadas con las secuencias de *Hedruris* disponibles en GenBank, utilizando el método de Máxima Verosimilitud con un cálculo de la matriz de distancias con K2P. Se utilizó una especie de Spiruridae como *outgroup*. Los números en los nodos representan los porcentajes de 500 réplicas bootstrap. Las secuencias se identifican por los números de acceso del GenBank, los nombres de los taxones y los hospedadores.

La secuenciación del gen 18S ARNr es una herramienta valiosa para la caracterización de los aislados hasta el nivel de género o especie (Liu 2011; Yooyangket *et al.* 2018). Los presentes resultados moleculares apoyan la ubicación de los ejemplares dentro del género *Hedruris*, corroborando que *H. dratini* se diferencia de las otras dos especies presentadas en el GenBank (Luque *et al.* 2010; Choudhury & Nadler 2018), ya que la identidad es inferior al 97%. Además, los presentes hallazgos confirman que los nematodos larvales encontrados en los anfípodos son de la misma especie que los encontrados en las tortugas. Las secuencias parciales del gen 18S analizadas en este estudio están muy conservadas entre las especies de *Hedruris*. Aunque la distancia genética entre *H. dratini* y *H. orestiae* es baja los caracteres morfológicos distinguen a estas dos especies estrechamente relacionadas, que comparten el hospedador intermediario y el definitivo. Este punto merece un mayor análisis molecular utilizando otros marcadores genéticos (e.g. COI, ITS), que tienden a ser más variables, proporcionando una identificación específica de la especie más fiable (Awise 1994; Palomares-Rius *et al.* 2017). Sin embargo, la secuencia obtenida puede considerarse como un recurso útil para estudios taxonómicos y filogenéticos.

2.3.2. Ecología parasitaria

Se analizaron 478 tortugas, de las cuales 436 fueron analizadas parcialmente a partir de muestras de contenido estomacal y/o materia fecal, y 42 fueron analizadas en su totalidad a partir de vísceras. Del total de tortugas, 169 estuvieron parasitadas (P = 35,35%, A = 6071, IM = 35,90) por al menos una de las 23 especies halladas (Tabla 15).

La mayoría de las tortugas evisceradas estuvieron parasitadas (P = 95,23%, IM = 96,50). Por el contrario, solo en el 29,58% de los hospedadores analizados a partir de regurgitados y fecas se hallaron parásitos.

Tabla 15: Parámetros totales de parasitismo en cada especie hospedadora. N_H = Número de hospedadores analizados; *a partir de vísceras, **a partir de regurgitados y fecas. P = Prevalencia. A = Abundancia. IM = Intensidad media.

Especie	Riqueza	N _H	P	A	IM
<i>Acanthochelys pallidipectoris</i>	3	1*	100%	1	1
		64**	7,81%	8	1,60
<i>Acanthochelys spixii</i>	1	1*	100%	6	6
<i>Hydromedusa tectifera</i>	7	12*	91,66%	1448	131,83
		278**	39,56%	2142	19,40
<i>Kinosternon scorpioides</i>	3	1*	100%	1	1
		17**	11,74%	4	2
<i>Phrynops hilarii</i>	12	22*	95,45%	1550	73,80
		73**	16,66%	37	3,08
<i>Phrynops williamsi</i>	2	2*	50%	139	139
<i>Trachemys dorbigni</i>	4	3*	100%	735	245
		4**	0%	0	0

La mayor riqueza específica se encontró en *P. hilarii*, seguida por *H. tectifera*, mientras que la menor riqueza se halló en *A. spixii* (Tabla 15 y 16). Las especies con mayor distribución hospedatoria en Argentina fueron *Spiroxys contortus* (Tabla 16) hallada en 4 especies hospedadoras y *T. birabeni* registrada en tres especies de tortugas.

Tabla 16: Lista de especies parásitas halladas en este trabajo por especie hospedadora. N = nematodos; D = digeneos; C = cestodes.

Hospedador	Especie
<i>Acanthochelys pallidipectoris</i>	<i>Camallanus</i> n. sp. 1 (N)
	<i>Thelandros</i> sp. (N) *
	Pharyngodonidae gen. sp. (N)*
<i>Acanthochelys spixii</i>	<i>Camallanus</i> n. sp. 2 (N)
<i>Hydromedusa tectifera</i>	<i>Atamatam</i> sp. (D)*
	<i>Cheloniodyplostomum testudinis</i> (D)*
	<i>Hedruris dratini</i> (N)
	<i>Hedruris orestiae</i> (N)*
	<i>Ophiotaenia cohospes</i> (C)
	<i>Spiroxys contortus</i> (N)
	<i>Telorchis devincenzii</i> (D)
<i>Kinosternon scorpioides</i>	<i>Camallanus</i> sp. (N)
	<i>Serpinema</i> sp. (N)
	Pharyngodonidae gen. sp. (N)*
<i>Phrynops hilarii</i>	<i>Caimanicola brauni</i> (D)
	<i>Camallanus</i> n. sp. 1 (N)
	<i>Camallanus</i> n. sp. 2 (N)
	<i>Cheloniodyplostomum argentinense</i> (D)
	<i>Cheloniodyplostomum testudinis</i> (D)
	<i>Cheloniodyplostomum</i> sp. (D)
	<i>Hedruris dratini</i> (N)
	<i>Prionosomoides phrynopsis</i> (D)
	<i>Spiroxys contortus</i> (N)
	<i>Telorchis birabeni</i> (D)
	<i>Telorchis diaphanus</i> (D)*
<i>Thelandros</i> sp. (N)*	
<i>Phrynops williamsi</i>	<i>Herpetodyplostomum duboisi</i> (D)*
	<i>Telorchis birabeni</i> (D)*
<i>Trachemys dorbignii</i>	<i>Camallanus emydidius</i> (N)
	<i>Falcaustra affinis</i> (N)
	<i>Spiroxys contortus</i> (N)
	<i>Telorchis dubius</i> (D)

* Nuevas asociaciones parásito - hospedador.

Diversidad y estructura parasitaria de *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii*

Un análisis y comparación más exhaustivo de las comunidades parásitas se realizó para *Hydromedusa tectifera* y *Phrynops hilarii*, ya que fueron las especies hospedadoras más representadas y con mayores prevalencias y riqueza parasitaria, los resultados se exponen a continuación.

Hydromedusa tectifera

La curva de acumulación de especies (Fig. 39) muestra que cuando se analizan más de 12 tortugas el inventario es confiable, lo cual indica que, si se continuara examinando ejemplares de esta especie hospedadora en los mismos sitios de muestreo, la cantidad de especies parásitas no variaría considerablemente. Por lo que el muestreo realizado se considera confiable.

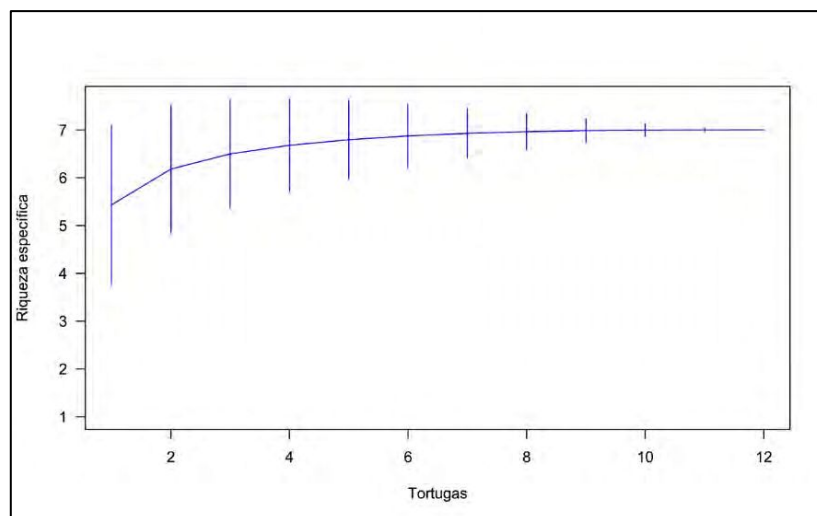


Figura 39: Curva de acumulación de especies parásitas en *H. tectifera*.

Se analizaron muestras de hospedadores provenientes de tres provincias de Argentina: Buenos Aires, Córdoba y San Luis. Se registraron siete especies parásitas: tres digeneos, tres nematodos y un cestode (Tabla 15).

La diversidad de la comunidad componente de *H. tectifera* fue baja y el nematode *H. dratini* fue la especie dominante (Tabla 17).

Tabla 17: Parámetros ecológicos de la comunidad componente de parásitos de *H. tectifera*.

Número de hospedadores examinados a partir de vísceras	12
Número de hospedadores examinados a partir de regurgitados/fecas	278
Riqueza	7
Abundancia	3625
Índice de dominancia de Simpson (λ)	0,75
Índice de diversidad de Simpson ($1-\lambda$)	0,24
Índice recíproco de Simpson ($1/\lambda$)	1,33
Índice de diversidad de Shannon - Wiener (H')	0,54
Equitatividad (E)	0,28
Dominancia de Berger Parker (D)	0,86

En las muestras de la provincia de San Luis no se hallaron parásitos. La especie dominante fue *H. dratini*, con una abundancia de 3115 individuos y una prevalencia de 15,17%, la cual solo se registró en la provincia de Buenos Aires. *Spiroxys contortus* fue la especie más prevalente, estando presente en el 22,75% de las muestras. Sólo *S. contortus* y *Ophiotaenia cohospes* estuvieron presentes tanto en la población hospedadora de Buenos Aires como en la de Córdoba.

La riqueza promedio de las infracomunidades de *H. tectifera* examinadas en su totalidad fue de 2 especies por hospedador (Fig. 40). Se registró un máximo de tres especies parásitas por hospedador, aunque la mayoría estuvo parasitada por una o dos especies de helmintos (75%), y solo se halló una tortuga sin parásitos.

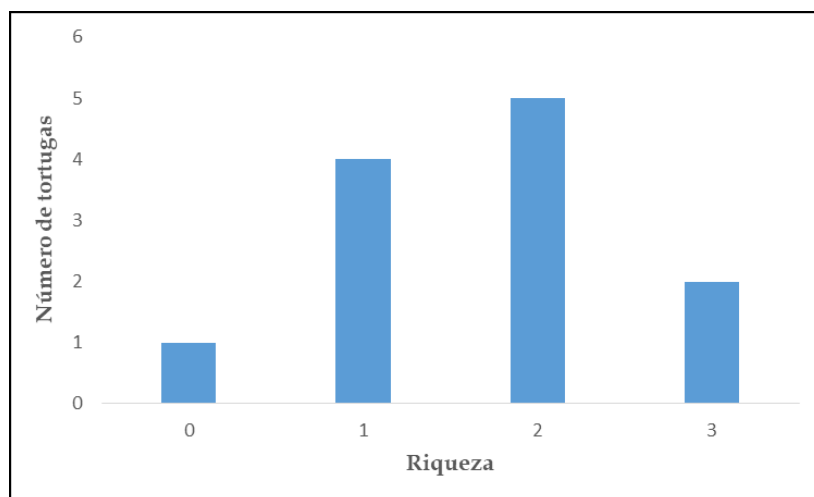


Figura 40: Número de individuos eviscerados de *H. tectifera* parasitados con 0 a 3 especies de helmintos.

Phrynops hilarii

La curva de acumulación de especies (Fig. 41) muestra que cuando se analizan más de 10 tortugas el inventario es confiable. Por lo cual con el presente muestreo (21 ejemplares) se obtuvo un muestreo representativo y confiable para la región.

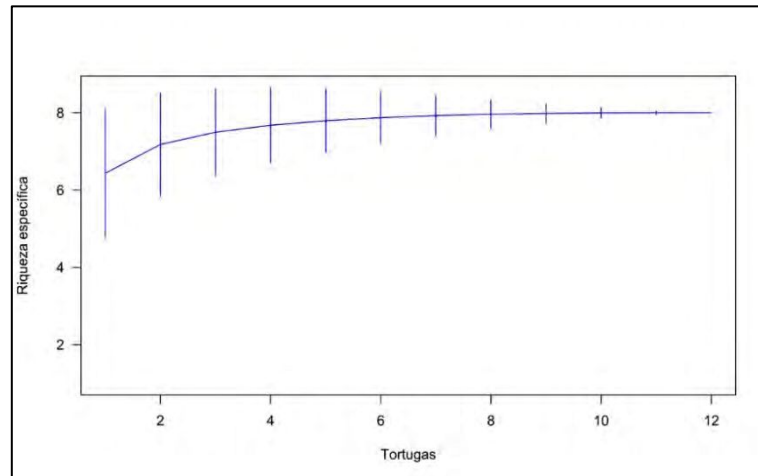


Figura 41: Curva de acumulación de especies parásitas en *P. hilarii*.

Se obtuvieron muestras de *P. hilarii* de seis provincias argentinas: Buenos Aires, Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe y Tucumán. Se registraron 12 especies de helmintos: siete digeneos y cinco nematodes (Tabla 16).

El análisis de los parámetros ecológicos de *P. hilarii* muestra que la comunidad componente de parásitos es más diversa en este hospedador que en *H. tectifera*, no se observó una clara dominancia de una especie en particular en esta comunidad (Tabla 18). La especie más prevalente fue *Spiroxys contortus* con 61,9% (teniendo en cuenta solo las tortugas evisceradas) y estuvo presente en cuatro de las seis provincias muestreadas.

Tabla 18: Parámetros ecológicos de la comunidad componente de parásitos de *P. hilarii*.

Número de hospedadores examinados a partir de vísceras	22
Número de hospedadores examinados a partir de regurgitados/fecas	73
Riqueza	12
Abundancia	1461
Índice de dominancia de Simpson (λ)	0,26
Índice de diversidad de Simpson ($1-\lambda$)	0,73
Índice recíproco de Simpson ($1/\lambda$)	3,80
Índice de diversidad de Shannon - Wiener (H')	1,54
Equitatividad (E)	0,60
Dominancia de Berger Parker (D)	0,29

La riqueza media parasitaria de las *P. hilarii* analizadas es su totalidad fue de 2 especies por infracomunidad (Fig. 42). Se registraron un máximo de tres especies parásitas por individuo hospedador, solo se halló una tortuga sin parásitos, mientras que la mayoría de las tortugas estuvo parasitada por al menos dos o tres especies de helmintos (71,4 %).

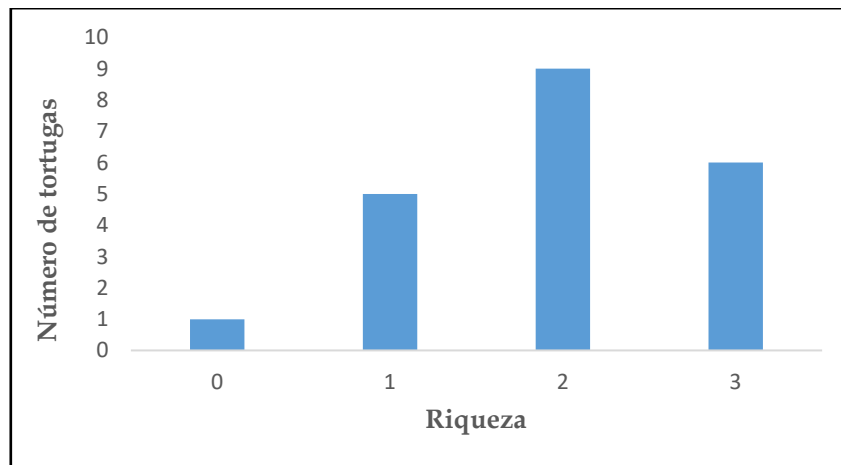


Figura 42: Número de individuos eviscerados de *P. hilarii* parasitados con 0 a 3 especies de helmintos.

Similitud de las comunidades componentes

Los valores del índice cualitativo de Jaccard y cuantitativo de Sørensen calculados entre ambas comunidades (i.e. *H. tectifera* y *P. hilarii*) fueron de 0,20 y 0,30 respectivamente. Ambas comunidades compartieron las especies *Cheloniodiplostomum testudinis*, *Hedruris dratini* y *Spiroxys contortus*.

2.3.3 Distribución geográfica de las comunidades parásitas

Se analizaron las comunidades parásitas de tortugas en tres provincias biogeográficas argentinas, la provincia del Chaco, la provincia Esteros del Iberá y la provincia Pampeana (Fig. 43). La provincia Paranaense no se incluyó en el análisis dado que solo se contó con dos ejemplares.

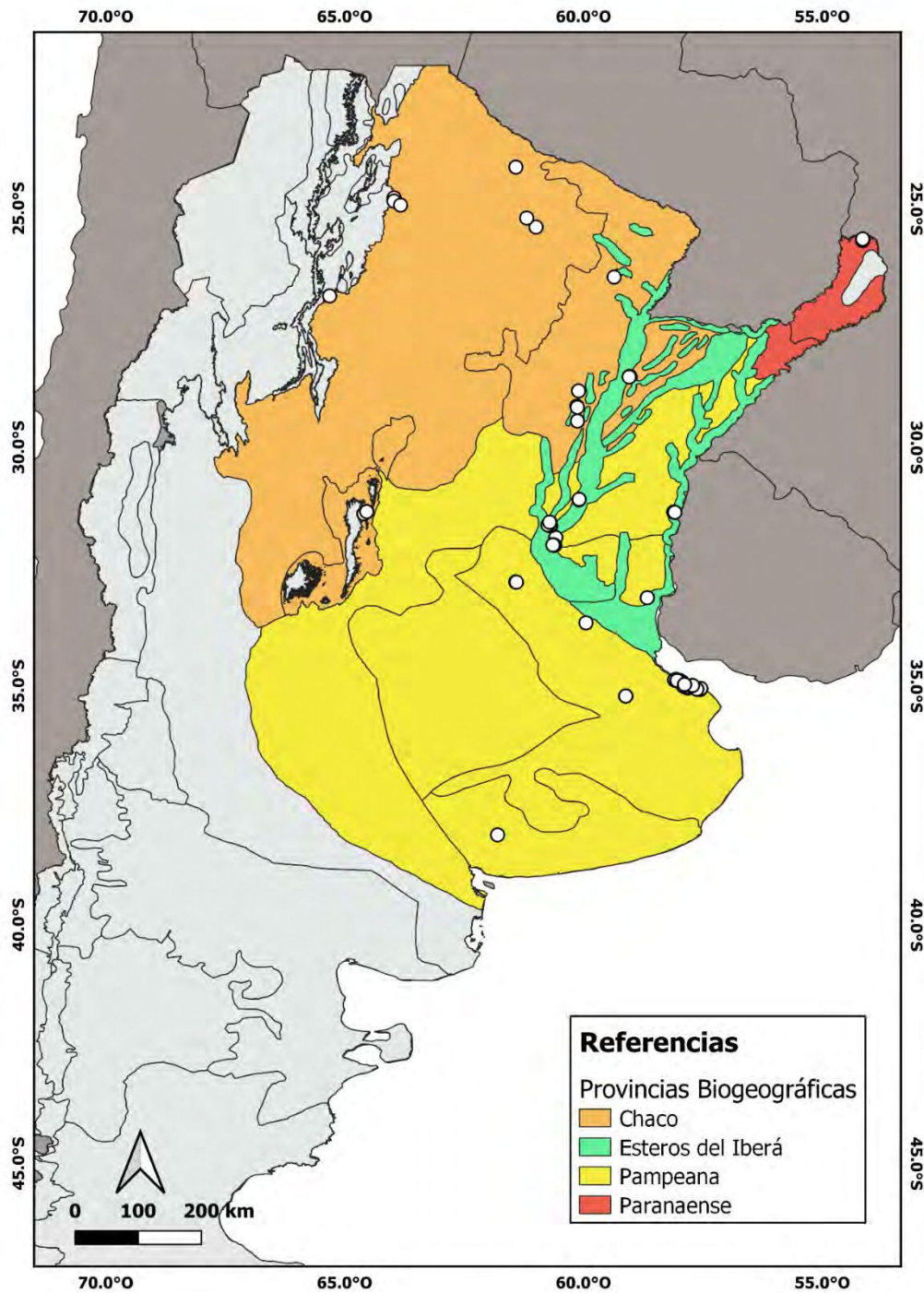


Figura 43: Distribución de los parásitos hallados en las cuatro provincias biogeográficas estudiadas.

Provincia del Chaco

En la provincia del Chaco se analizaron muestras provenientes de *Acanthochelys pallidipectoris* (AP), *Hydromedusa tectifera* (HT), *Kinosternon scorpioides* (KS) y *Phrynops hilarii* (PH), a partir de los cuales se hallaron nueve especies parásitas, siendo los nematodos el grupo mejor representado (Tabla 19).

Tabla 19: Especies parásitas registradas en la provincia biogeográfica del Chaco. N= número de individuos.

Espece	N	Hospedador
Cestodes		
<i>Ophiotaenia cohospes</i>	5	HT
Digeneos		
<i>Prionosomoides phrynopsis</i>	273	PH
<i>Telorchis birabeni</i>	10	PH
Nematodes		
<i>Camallanus</i> sp.	3	KS
<i>Camallanus</i> n. sp. 1	5	AP
Pharyngodonidae gen. sp.	3	AP, KS
<i>Serpinema</i> sp.	1	KS
<i>Spiroxys contortus</i>	252	HT, PH
<i>Thelandros</i> sp.	5	AP, PH

El análisis de los parámetros ecológicos en la provincia biogeográfica del Chaco muestra que la comunidad componente de parásitos es diversa, sin identificarse claramente una especie dominante (Tabla 20).

Tabla 20: Parámetros ecológicos de la comunidad componente en la provincia del Chaco.

Riqueza	9
Abundancia	557
Índice de dominancia Simpson (λ)	0,45
Índice de diversidad de Simpson ($1-\lambda$)	0,55
Índice recíproco de Simpson ($1/\lambda$)	2,22
Índice de Diversidad de Shannon - Wiener (H')	0,95
Equitatividad (E)	0,43
Dominancia de Berger Parker (D)	0,49

Provincia Esteros del Iberá

En la provincia Esteros del Iberá se analizaron muestras pertenecientes a *Acanthochelys spixii* (AS), *P. hilarii* (PH) y *Trachemys dorbigni* (TD), y se hallaron 11 especies parásitas pertenecientes a los clados Digenea (6) y Nematoda (5) (Tabla 21).

Tabla 21: Especies parásitas registradas en la provincia Esteros del Iberá. N= número de individuos.

Especie	N	Hospedador
Digeneos		
<i>Cheloniodiplostomum argentinense</i>	231	PH
<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i>	30	PH
<i>Prionosomoides phrynopsis</i>	154	PH
<i>Telorchis birabeni</i>	12	PH
<i>Telorchis diaphanus</i>	15	PH
<i>Telorchis dubius</i>	7	TD
Nematodes		
<i>Camallanus</i> n. sp. 1	6	PH
<i>Camallanus</i> n. sp. 2	11	AS, PH
<i>Camallanus emydidius</i>	4	TD
<i>Falcaustra affinis</i>	712	TD
<i>Spiroxys contortus</i>	40	PH, TD

El análisis de los parámetros ecológicos en la provincia Esteros del Iberá muestra una comunidad componente de parásitos diversa, sin identificarse una especie claramente dominante (Tabla 22).

Tabla 22. Índices de diversidad en la provincia Esteros del Iberá.

Riqueza	11
Abundancia	1222
Índice de Dominancia de Simpson (λ)	0,39
Índice de diversidad de Simpson (1- λ)	0,60
Índice recíproco de Simpson (1/ λ)	2,41
Índice de Diversidad de Shannon - Wiener (H')	1,31
Equitatividad (E)	0,54
Dominancia de Berger Parker (D)	0,58

Provincia Pampeana

En la provincia Pampeana se analizaron a las especies *H. tectifera* (HT), *P. hylarii* (PH) y *T. dorbignii* (TD), y se registraron 13 especies parásitas. Los digeneos fueron el grupo mejor representado, seguido por los nematodos (Tabla 23).

Tabla 23: Especies parásitas registradas en la provincia Pampeana. N= número de individuos.

Especies	N	Hospedador
Cestodes		
<i>Ophiotaenia cohospes</i>	73	HT
Digeneos		
<i>Atamatam</i> sp.	3	HT
<i>Caimanicola brauni</i>	15	PH
<i>Cheloniodiplostomum argentinense</i>	188	PH
<i>Cheloniodiplostomum</i> sp.	500	PH
<i>Cheloniodiplostomum testudinis</i>	24	HT, PH
<i>Telorchis birabeni</i>	1	PH
<i>Telorchis devincenzii</i>	21	HT
Nematodes		
<i>Falcaustra affinis</i>	10	TD
<i>Hedruris dratini</i>	3118	HT, PH
<i>Hedruris orestiae</i>	42	HT
<i>Spiroxys contortus</i>	154	HT, PH, TD

El análisis de los parámetros ecológicos en la provincia Pampeana muestra que la comunidad componente de parásitos presenta una diversidad baja (Tabla 24). Se identificó una especie dominante, *Hedruris dratini*, presente tanto en *H. tectifera* como en *P. hylarii*. El único parásito que estuvo presente en las tres especies de tortugas fue *Spiroxys contortus*.

Tabla 24: Índices de diversidad en la provincia Pampeana.

Riqueza	12
Abundancia	4149
Índice de dominancia de Simpson (λ)	0,58
Índice de diversidad de Simpson ($1-\lambda$)	0,42
Índice recíproco de Simpson ($1/\lambda$)	1,71
Índice de Diversidad de Shannon - Wiener (H')	0,95
Equitatividad (E)	0,37
Dominancia de Berger Parker (D)	0,75

Solo se analizaron dos ejemplares de *P. williamsi* provenientes de la provincia Paranaense, de los cuales solo uno estuvo parasitado con dos especies parásitas, por lo cual no se contó con el material suficiente para realizar el resto de los análisis.

2.3.4 Arroyos no disturbados vs. disturbados

Los arroyos no disturbados (altos índices de IBPAMP) en la provincia biogeográfica Pampeana fueron: Buñirigo, Cajaravilla, El Pescado, Martin, Tubichamini y el Zapata. De estos arroyos se analizaron 121 regurgitados y 5 ejemplares completos de las especies *H. tectifera*, *P. hilarii* y *T. dorbigni* (Fig. 44). Se observó una riqueza total de diez especies parásitas, una prevalencia total del 37,3 %, una abundancia de 393 individuos y una intensidad media de 8,36.

Los arroyos disturbados (bajos índices de IBPAMP) en la región Pampeana fueron: Carnaval, El Gato, Maldonado y el Rodriguez. También se incluyeron las tortugas atropelladas dentro de las ciudades de Arana y del casco urbano de La Plata (Museo de La Plata). Se analizaron 63 regurgitados y 9 ejemplares completos de las especies *H. tectifera* y *P. hilarii* (Fig. 44). Se halló una riqueza total de siete especies parásitas, una prevalencia del 68,05 %, una abundancia de 3713 individuos y una intensidad media de 75,77.

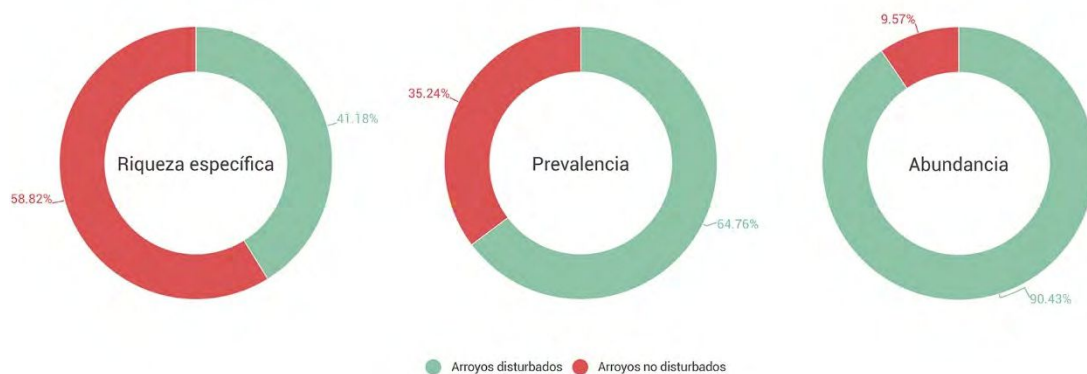


Figura 44: Porcentajes de tres diferentes índices parasitológicos registrados en tortugas, en ambientes disturbados y no disturbados: **Riqueza, Prevalencia y Abundancia.**

Las cinco especies de parásitos que estuvieron presentes en ambos tipos de ambientes fueron *Chelonidiplostomum argentinense*, *Hedruris dratini*, *H. orestiae*, *Ophiotaenia cohospes* y *Spiroxys contortus*, mientras que *Atamatam* sp., *Caimanicola brauni*, *C. testudinis*, *Falcaustra*

affinis y *T. devincenzii* solo se registraron en los arroyos no disturbados y *Cheloniodiplsotomum* sp. y *Telorchis birabeni* en los arroyos disturbados.

2.4 Discusión

Habitualmente la técnica más utilizada para la búsqueda de endo-helminthos parásitos es la captura y evisceración de los hospedadores y el procesamiento de sus órganos internos. Al trabajar con vertebrados mayores y teniendo en cuenta que algunas especies de tortugas se encuentran en peligro de extinción (e.g. *Acanthochelys*), en la mayoría de los casos, no es posible la eutanasia. Los hospedadores completos analizados en este trabajo fueron individuos hallados muertos o especímenes depositados en colecciones. Para aumentar la obtención de muestras de parásitos internos, se aplicaron técnicas no invasivas, como el *flushing* y la búsqueda en materia fecal. Es importante señalar que la mayoría de las especies parásitas halladas a partir de regurgitados y fecas, fueron también halladas en hospedadores eviscerados de las mismas especies y localidades. Sin embargo, este procedimiento permitió el registro de Pharyngodonidae gen. sp. en *Acanthochelys pallidipectoris* y *Kinosternon scorpioides*, *Thelandros* sp. en *Acanthochelys pallidipectoris* y *Phrynops hilarii*, *Camallanus* sp. en *Kinosternon scorpioides*, y *Hedruris dratini* en *Phrynops hilarii*, las cuales no pudieron ser registradas a partir de las evisceraciones. Los resultados indican que el *flushing* es una técnica muy valiosa a la hora de describir las comunidades parasitarias en este tipo de hospedadores.

En total se documentaron 30 nuevos registros geográficos para Argentina, sumando así 34 registros de parásitos para las tortugas dulceacuícolas del país. Se aportan 18 nuevas asociaciones parásito-hospedador, siendo *P. hilarii* la especie con más registros parásitos (6), seguida por *H. tectifera* (4), *A. pallidipectoris*, *K. scorpioides* (3) y *P. williamsi* (2). Entre estos registros se destacan los hallazgos en *A. pallidipectoris* y *P. williamsi*, ya que hasta el momento no se conocían parásitos en estas especies de tortugas en toda su distribución. En el gráfico (Fig. 45) se puede observar la contribución de este estudio para cada especie hospedadora, resaltando las nuevas asociaciones parásito-hospedador, los nuevos registros geográficos para Argentina, y las especies que se registraron en otros países, pero que hasta el momento no se encontraron en Argentina.

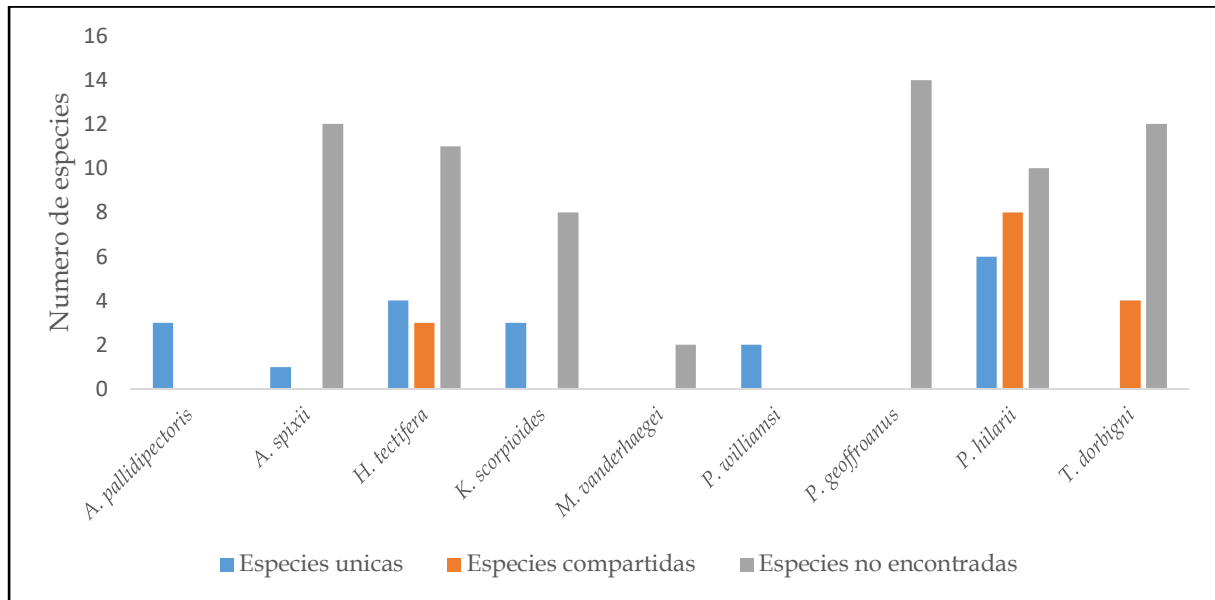


Figura 45: Gráfico comparativo entre el número de especies parásitas registradas únicamente en Argentina (barras celestes), cantidad de registros compartidos con otros países (barras naranjas) y cantidad de especies halladas en otros países pero no registradas en Argentina (barras grises), para cada especie hospedadora.

Además, se amplía el registro geográfico dentro de Argentina, ya que hasta el inicio de este trabajo solo se tenían registros para la provincia de Corrientes, ahora se añaden las provincias de Buenos Aires, Chaco, Córdoba, Entre Ríos, Formosa, Misiones, Salta, Santa Fe y Tucumán (Fig. 46). Así, de las 15 provincias en las cuales se distribuyen las tortugas, ahora se cuenta con información parasitaria para diez de ellas. Cabe destacar que en la provincia de San Luis se analizaron regurgitados de tres *H. tectifera*, pero no se encontraron parásitos, mientras que, a pesar de haber realizado campañas de muestreo, no se pudieron obtener hospedadores en Jujuy, Mendoza, San Juan y Santiago del Estero.

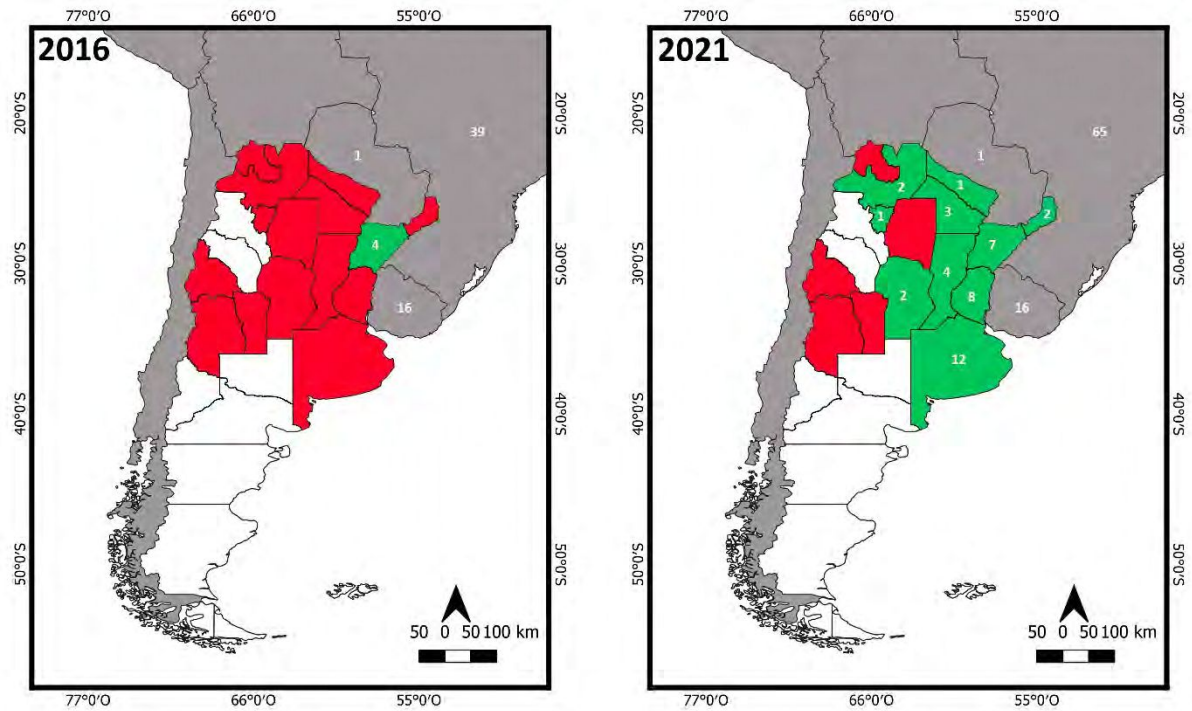


Figura 46: Registros de parásitos en tortugas dulceacuícolas presentes en Argentina y países limítrofes al comienzo (2016) y al final (2021) de este trabajo.

Como se puede observar en la figura 44, antes del 2016 solo existían cuatro registros de parásitos en tortugas de agua dulce para Argentina, todos en la provincia de Corrientes, siendo Brasil y Uruguay los países con más registros de la zona (39 y 16 registros respectivamente). A partir de este estudio (2022), se aportan 38 nuevos registros de parásitos, multiplicando por diez el conocimiento de la fauna parasitaria en Argentina, ubicando al país en el segundo lugar de la región en cuanto a registros de parásitos en tortugas, detrás de Brasil (que creció menos del doble) y superando a Uruguay, que no pudo aportar nuevos registros en estos últimos años.

Brasil cuenta con el mayor número de especies registradas en Sudamérica (65), correspondiendo la mayoría a registros en las tortugas *A. spixii*, *H. tectifera*, *K. scorpioides*, *M. vanderhaegei*, *P. geoffroanus* y *T. dorbigni*. Argentina posee más registros para *A. pallidipectoris*, *P. williamsi* y *P. hylarii*. Es importante destacar que la única especie de tortuga presente en Argentina que no se distribuye en Brasil es *A. pallidipectoris*. A partir de este trabajo se contabiliza una mayor cantidad de especies parásitas (14) para *P. hylarii* en comparación al resto de su distribución geográfica, superando incluso el número de especies parásitas registradas para esta tortuga en Brasil. Para el caso de *H. tectifera* en Argentina, a partir de este

trabajo se alcanza casi la misma cantidad de especies parásitas registradas que Brasil (7 vs 8; Fig. 47).

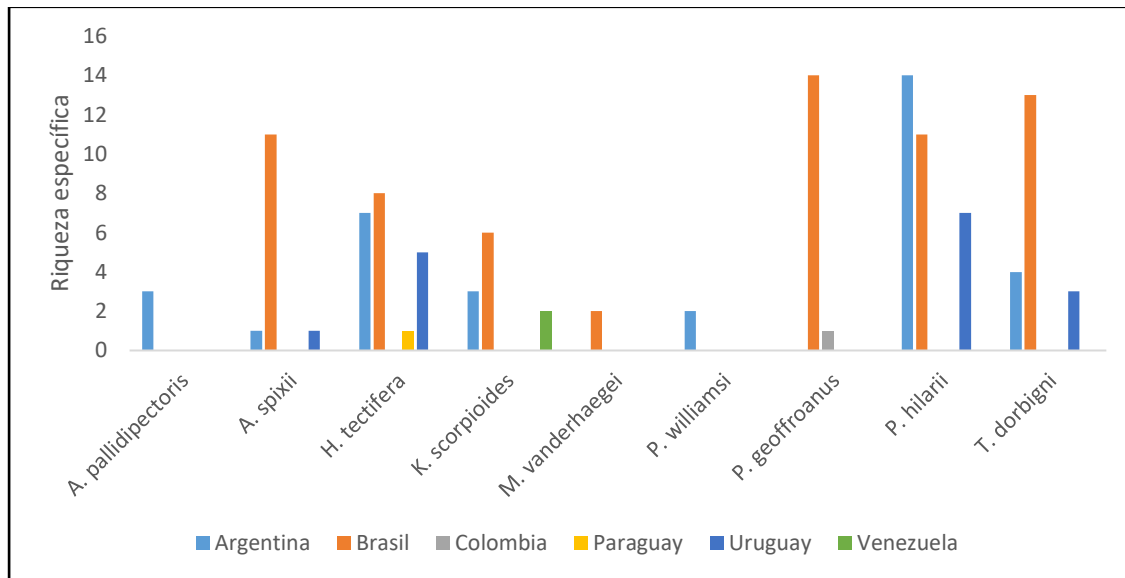


Figura 47: Gráfico comparativo de las riquezas de helmintos en tortugas por país.

Es conocida la asociación positiva entre la distribución geográfica del hospedador y su riqueza parasitaria (Dallas *et al.* 2020), indicando que, a mayor rango de distribución, mayor número de especies parásitas presentará una especie hospedadora. En este caso, la tortuga con mayor distribución dentro de Sudamérica es *K. scorpioides*, sin embargo, la especie con más parásitos registrados (24 taxones) es *P. hilarii*, la cual posee un rango de distribución mucho más acotado, siendo incluso una de las tortugas más australes (Sánchez *et al.* 2019). ¿Por qué *P. hilarii* cuenta con un mayor registro de especies parásitas que el resto de las tortugas? La respuesta a este interrogante puede encontrarse en tres características asociadas a los hospedadores, como son: el ambiente que habitan, los hábitos tróficos y el comportamiento de cada una. *Phrynops hiliarii* es una tortuga con mucha plasticidad, ya que puede encontrarse tanto en grandes ríos, como en pequeños arroyos, en extensas lagunas como en reducidas charcas, en estanques prístinos como en zanjas con aguas residuales en el centro de grandes ciudades (Cabrera 1998). Por esta razón, si bien el rango de distribución de estos quelonios no es amplio, al exponerse a ambientes tan contrastantes, incrementan sus interacciones con otros animales y así aumenta el riesgo de nuevas infecciones (e.g. en aguas más prístinas las tortugas consumirán invertebrados con poca tolerancia a los contaminantes, como los odonatos, HI de *S. contortus*, y en ambientes más disturbados, consumirán otro tipo de invertebrados como los anfípodos, HI de *Hedruris dratini*, con mayor tolerancia a los contaminantes). La dieta es otro

factor clave, y tal vez el más importante a la hora del estudio de su fauna parasitaria, puesto que es la vía de ingreso de la mayoría de las larvas infectivas a un hospedador definitivo. Al encontrarse en ambientes tan diversos, y tener una dieta omnívora, los ítems presa que consume son muy variados (Alcalde *et al.* 2010, Assmann *et al.* 2013). El último factor a tener en cuenta es el comportamiento. Es característico que las tortugas de esta especie se asoleen (*basking*) fuera del agua y que pasen largos periodos de tiempo fuera de ella (López *et al.* 2013; Semeñiuk & Alcalde 2017; Clavijo-Baquet & Magnone 2017), exponiéndose no solo a parásitos con ciclos de vida acuáticos (e.g. *Hedruris dratini*), sino también a parásitos asociados a ambientes terrestres (e.g. *Thelandros*), a partir de la materia fecal de otros animales que pueda estar presente en el suelo.

Sin embargo, existe otro punto a tener en cuenta y es el esfuerzo de estudio sobre un determinado hospedador. La amplia distribución de *P. hylarii* en tres provincias biogeográficas (Chaqueña, Esteros del Iberá y Pampa), la gran diversidad de ambientes que frecuenta, el comportamiento que la hace más visible, son todas características que favorecen su estudio, en contraste con otras especies de tortugas con diferentes hábitos (e.g. más acuáticas), o que habitan ambientes que dificultan su captura (e.g. bosques cerrados e inhóspitos) o bien se hallan en bajos números poblacionales, y que en consecuencia limitan el acceso al conocimiento de las mismas.

En todas las provincias biogeográficas analizadas se registraron parásitos, siendo la provincia Pampeana la de mayor riqueza, seguida de la provincia biogeográfica Esteros del Iberá (Fig. 48).

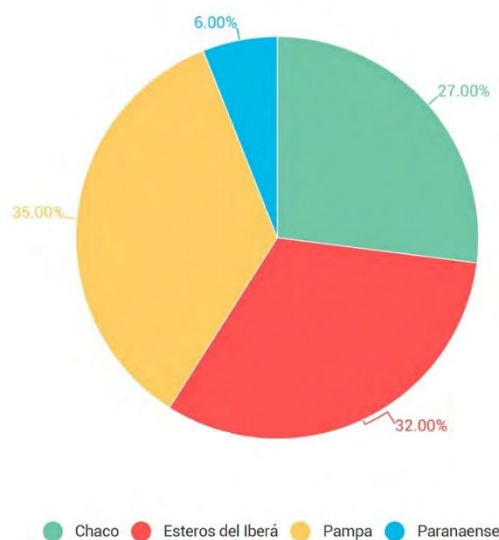


Figura 48: Porcentaje de especies parásitas registradas en cada provincia biogeográfica Argentina muestreada.

Estos datos concuerdan con los estudios realizados por Mascarenhas *et al.* (2021a), ya que estas regiones biogeográficas son diversas (mayor número de HI) y por lo tanto favorecen el desarrollo de los ciclos de vida indirectos de los parásitos.

Si bien la provincia pampeana fue la más rica en especies parásitas, también fue la región más muestreada y en la cual más tortugas completas se pudieron eviscerar (Fig. 49).

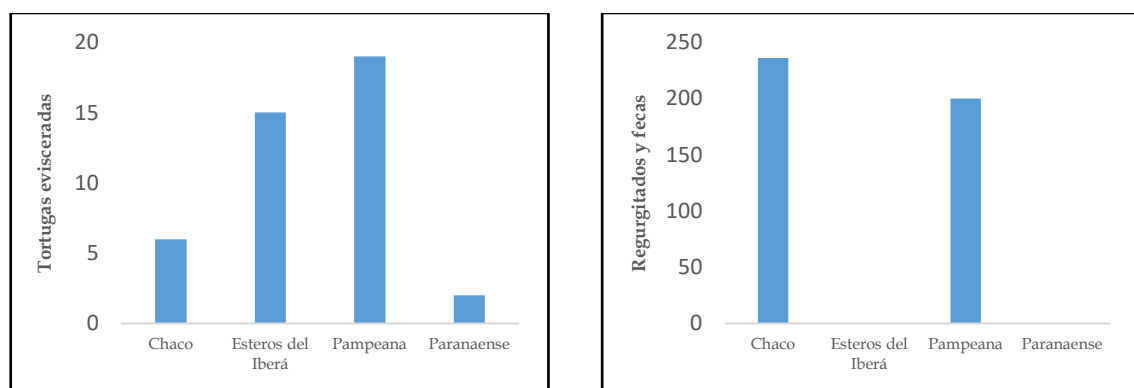


Figura 49: Muestras analizadas a partir de tortugas completas evisceradas (izquierda) y a partir de regurgitados y fecas (derecha), por provincias biogeográfica.

Si se relaciona la cantidad de especies registradas en cada provincia biogeográfica con la cantidad de material examinado, se observa que, a pesar de haberse analizado un menor número de tortugas completas en las provincias del Chaco y Esteros del Iberá, se encontraron un gran número de especies parásitas. Teniendo en cuenta que las muestras de regurgitados y materia fecal solo aportan parásitos que se alojan en el estómago o que se desprenden de su localización y resisten la acción del tubo digestivo hasta llegar a las heces -hazaña que pocos pueden lograr-, se podría hipotetizar que si se analizaran un mayor número de tortugas completas en estas provincias biogeográficas se alcanzaría una diversidad de parásitos aún mayor.

La mayor riqueza de digeneos observada en los arroyos mas prístinos, puede atribuirse a la presencia de una mayor diversidad de gasterópodos, los cuales son más sensibles a las alteraciones antropogénicas (Ferreira 2015). Mascarenhas *et al.* (2021b), analizaron la parasitofauna de *T. dorbigni* en dos arroyos en Brasil, uno urbano (disturbado) y uno rural

(prístino). Dichos autores observaron que las tortugas en el ambiente urbano tenían una carga parasitaria y una abundancia mayor a las tortugas de la zona rural. En concordancia con lo obtenido por estos autores, en esta tesis los arroyos disturbados presentaron menor cantidad de especies parásitas respecto a los arroyos no disturbados (7 *vs.* 10), sin embargo, en estos últimos arroyos presentaron una mayor prevalencia de tortugas infectadas (68,05% *vs.* 37,3%) y una mayor abundancia (3713 *vs.* 393).

Capítulo 3



Variación estacional de parásitos en tortugas de agua dulce:
El caso del nematode *Hedruris dratini* en *Hydromedusa tectifera*

3.1 Introducción

3.2 Materiales y Métodos

3.3 Resultados

3.4 Discusión

3.5 Conclusiones

Variación estacional de parásitos en tortugas de agua dulce: el caso del nematode *Hedruris dratini* en *Hydromedusa tectifera*

3.1 Introducción

Diferentes autores han analizado la dinámica poblacional de parásitos en diferentes tipos de hospedadores y ambientes (e.g. Clayton & Moore 1997; Anderson 2000; Bolek & Coggins 2000; Timi *et al.* 2009). Sin embargo, solo algunos se han abocado al estudio de hospedadores que entran en estado de diapausa en los meses más fríos (hibernación). Gran parte de estas investigaciones se realizaron sobre mamíferos (e.g. Rush 1932; Rausch 1954, 1961; Gau *et al.* 1999; Callait & Gauthier 2000; Postawa & Nagy 2016), y un menor número sobre reptiles del hemisferio norte (Van Cleave 1916; Dubinina 1949; Esch & Gibbons 1967). Pero ¿cómo se ve afectada la dinámica poblacional de una especie parásita si la especie hospedadora fuera una tortuga subtropical que entra en estado de torpor los días más fríos del año? ¿qué factores influyen sobre la dinámica de sus poblaciones parásitas?

Cuando la temperatura ambiental decrece, las tortugas de agua dulce tienden a buscar refugio, dejan de alimentarse y disminuyen su metabolismo al mínimo, entrando en un estado de latencia (torpor). Este estado afecta la nutrición, inmunidad, los hábitos y la dispersión de las tortugas, pudiendo durar días, semanas o hasta meses en función del clima (Ultsch 1989).

El ambiente interno del hospedador donde los parásitos habitan es análogo al nicho ecológico de las especies de vida libre. Así como los parásitos pueden influenciar al hospedador alterando su fisiología, comportamiento y la dieta (Bower *et al.* 2019), del mismo modo, los parásitos sufren las consecuencias de los cambios de estación (e.g. las variables ambientales pueden afectar la supervivencia de los estadios larvales y la transmisión de huevos; Altizer *et al.* 2006). Por lo tanto, las poblaciones parásitas tienen dos maneras de persistir cuando las variables ambientales se tornan adversas: pueden pasar los periodos desfavorables fuera del hospedador en un estado de resistencia, o bien, permanecer dentro del hospedador como adultos, pero generando adaptaciones que les permitan compensar el estrés (Chute 1964; Combes 1995).

Hay pocos registros de parásitos para *Hydromedusa tectifera* en Argentina. Entre ellos, *Hedruris dratini* es un nematode muy prevalente que parasita el estómago de varias poblaciones de *Hyd. tectifera*. Este parásito tiene un ciclo de vida indirecto que incluye un anfípodo del género *Hyalella* Smith, 1874 como hospedador intermediario (Palumbo *et al.* 2020).

El objetivo de este capítulo es comprender como afecta el estado de torpor del hospedador a las poblaciones parásitas, tomando como modelo al sistema *H. dratini* - *Hyd. tectifera* en un arroyo urbano, describiendo la dinámica poblacional de este nematode en el transcurso de un año. Para cumplir con este objetivo se plantearon las siguientes preguntas: la población de *H. dratini* en *Hyd. tectifera* ¿se mantiene estable en términos numéricos y de composición (machos, hembras, subadultos)? ¿o fluctúa durante el año? Si hay alguna variación, ¿cuáles son los factores responsables de estos cambios?, ¿las hembras liberan huevos al ambiente cuando las tortugas están en torpor?, ¿hay cambios en las prevalencias de los hospedadores intermediarios parasitados durante las diferentes estaciones?

Se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1- Analizar y comparar la prevalencia de *H. dratini* en *Hyd. tectifera* entre estaciones, discriminando también entre sexo y talla de las tortugas; 2- Relacionar la variación de las condiciones ambientales (i.e. temperatura y lluvia acumulada) con las prevalencias de *H. dratini* en *Hyd. tectifera*; 3- Analizar la variación estacional de sexos y maduración sexual de *H. dratini* en *Hyd. tectifera*; 4- Describir la dieta de *Hyd. tectifera* durante el año con énfasis en la ingesta de anfípodos; y finalmente, 5- Analizar la variación estacional en las prevalencias de *H. dratini* en anfípodos *Hyaella* spp.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Muestreos y área de estudio

Las muestras fueron tomadas al principio y al final de cada estación (verano, otoño, invierno, primavera) durante el año 2018 (ocho muestreos en total) en el arroyo Rodriguez (34°53'02" S; 58°02'30" O, datum: WGS84), City Bell, ciudad de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina (Fig. 50). El arroyo tiene la naciente en el noroeste de la ciudad, en un área semi rural, que atraviesa zonas urbanas, y luego de atravesar una zona rural, desemboca en el Río de la Plata, en el balneario de Punta Lara. El curso del arroyo en las zonas urbanas recibe grandes cantidades de desechos cloacales y basura de las casas aledañas. Por lo tanto, este es un arroyo muy disturbado, el cual fue descripto por varios autores resaltando sus parámetros fisicoquímicos y características bióticas (Lenicov *et al.* 2005, Conforti *et al.* 2009; Semeñiuk *et al.* 2019). Cuarenta individuos de *Hydromedusa tectifera* fueron capturados manualmente en la sección media del arroyo en cada temporada (20 al comienzo y 20 al final de cada estación), sumando un total de 160 tortugas al final del año. Las tortugas capturadas se llevaron al laboratorio y se relevaron los siguientes caracteres: sexo (de acuerdo al dimorfismo sexual, y

en el caso de los juveniles, a partir de la técnica de eversión del pene propuesta por Rodrigues *et al.* 2014), peso (precisión de 1g), y talla (tomando la línea recta del caparazón). Los individuos fueron marcados de acuerdo con Cagle (1939), y se les realizó un lavado de estómago (técnica propuesta por Legler 1977). Luego, cada tortuga fue depositada en un contenedor plástico individual con agua durante una noche y posteriormente liberada en el mismo sitio de captura. El agua de cada contenedor se filtró para recolectar las heces. Las muestras de contenido estomacal y la materia fecal se conservaron en etanol 70%.

Adicionalmente, se tomaron muestras de ítems presa en cada muestreo (8 muestreos en total), pasando una red de mano (30 cm de boca, malla 1 mm) 15 veces, cubriendo los diferentes ambientes del arroyo. Estas muestras se conservaron en etanol 70% y se llevaron al laboratorio para conocer y cuantificar la oferta alimentaria total (abundancia de ítems presa disponibles) y realizar el conteo de anfípodos, distinguiendo aquellos que contengan larvas de *H. dratini*.

Los datos de temperatura y lluvia acumulada correspondientes a los periodos de los muestreos se obtuvieron a partir de la estación meteorológica de La Plata (Departamento de Sismología y Meteorología - Facultad de Ciencias Astronómicas y Geofísicas - UNLP).

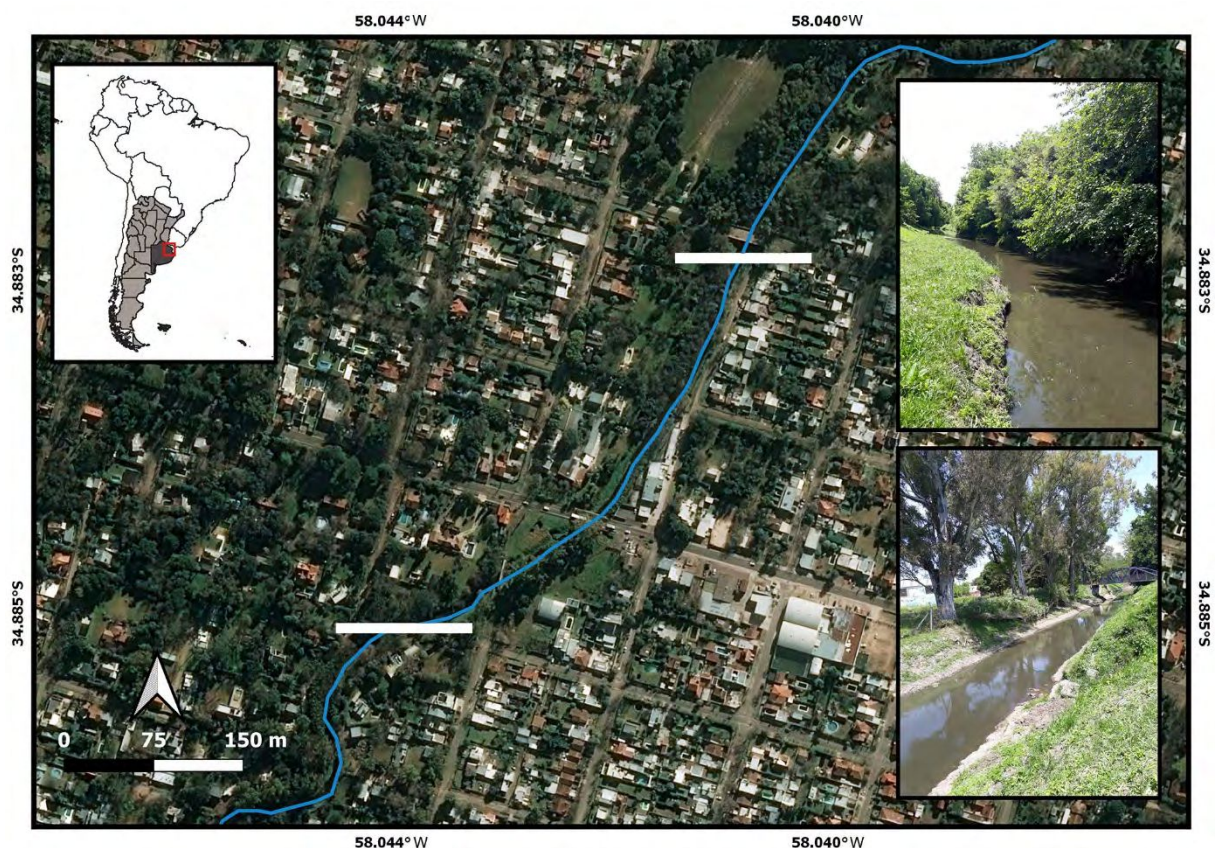


Figura 50: Mapa del área de estudio, indicando la sección del arroyo Rodríguez muestreado.

3.2.2 Estudio parasitológico

Los contenidos estomacales y las muestras fecales se examinaron bajo el microscopio estereoscópico en busca de parásitos. Los nematodos hallados se montaron temporalmente en lactofenol de Amman y se estudiaron bajo el microscopio óptico. Todos los especímenes encontrados se contaron y midieron (en verano se midió solo el 50% de los nematodos debido a la gran abundancia). Todas las medidas se expresan en micrómetros, en caso contrario, se indica.

Se tomó una muestra de 100 anfípodos por cada muestreo (800 en total), los cuales fueron aclarados con lactofenol de Amman y examinados bajo microscopio estereoscópico en busca de estadios larvales de *H. dratini*.

3.2.3 Estudio de la dieta

Los ítems presa colectados de los contenidos estomacales, muestras fecales y los disponibles en el ambiente fueron identificados a la menor categoría taxonómica posible y contados. Para las muestras de contenido estomacal y fecas (de acuerdo con Sánchez *et al.* 2021), se midió cada ítem presa bajo un microscopio estereoscópico con accesorios para la medición ($\pm 0,10\text{mm}$). Las medidas se utilizaron para calcular el volumen de cada ítem de acuerdo con el método del elipsoide de Dunham (1983).

La contribución de cada ítem a la dieta se evaluó utilizando el Índice de Importancia Relativa (IIR) según Pinkas (1971), cuya fórmula es: $IIR = \%OF [\%V + \%N]$, donde %OF es la frecuencia de ocurrencia (porcentaje de estómagos que contienen un determinado ítem presa), %V es la proporción del volumen de cada ítem presa en relación al total del volumen de todos los ítems presa, y %N representa la frecuencia numérica (es la proporción entre el número de individuos de cada ítem y el total de individuos de todos los ítems presa). El ítem presa con mayor valor de IIR se utilizó para clasificar los valores porcentuales de los ítems restantes. Las siguientes categorías de IIR por ítem fueron consideradas: Fundamental (valores de IIR entre 75,10 y 100%), Secundario (50,10 - 75%), Accesorio (25,10 - 50%) y Accidental (menor a 25%). Para simplificar el cálculo del IIR, la sobrerrepresentación de las categorías de elementos poco abundantes se evitó agrupando las categorías de elementos similares en grupos más inclusivos (e.g. varios géneros de coleópteros acuáticos se incluyeron a nivel de familia). Para calcular el IIR se diferenció también entre estadio larval y adulto (e.g. Diptera, Coleoptera, Anura) ya que la depredación de estas formas tiene un significado biológico diferente. En complemento, el

Índice de diversidad de Shannon (H'), convirtiendo los datos a logaritmo natural (Shannon & Weaver 1949), se aplicó para comparar la diversidad de los ítems presa consumidos por la tortuga (H_d) y los disponibles en el arroyo (H_o). Se evaluaron las diferencias significativas entre los valores de H' mediante un T - test.

3.2.4 Parámetros de la población parasitaria

La abundancia (n), prevalencia (P) e intensidad media (IM) de *H. dratini* se calcularon según Bush *et al.* (1997). Se aplicó también el término “población componente” según Bush *et al.* (1997). Las prevalencias se calcularon teniendo en cuenta la presencia/ausencia de adultos de *H. dratini* en cada tortuga (encontrados tanto en sus muestras estomacales y/o fecales), como de larvas en anfípodos.

3.2.5 Análisis estadístico

Para comprobar las diferentes relaciones, se aplicaron los siguientes estadísticos:

Chi-cuadrado de Pearson (χ^2) para determinar las diferencias significativas en: la prevalencia parasitaria entre las tortugas recapturadas y las no recapturadas; la variación estacional de las prevalencias de *H. dratini* en *Hyd. tectifera*; la prevalencia parasitaria de *H. dratini* entre las clases de tamaño (CT) de *Hyd. tectifera* en base a tres rangos de longitud recta del caparazón de las tortugas (CT I: < 130 mm; CT II: 130 - 200 mm, y CT III: > 200 mm: véase Bonino *et al.* 2009); variaciones estacionales en las prevalencias de larvas de *H. dratini* en *Hyalella* sp.; variaciones estacionales en la proporción de sexos de *H. dratini*; variaciones estacionales en la proporción de hembras grávidas/no grávidas de *H. dratini*.

En el caso que las tablas de contingencia mostrasen diferencias significativas se procedió a realizar un test de χ^2 con comparaciones pareadas.

Análisis de la varianza con un factor (ANOVA) se aplicó para encontrar diferencias significativas tanto en la prevalencia como en el tamaño de *H. dratini* en *Hyd. tectifera* por estación. Los datos de normalidad (N_m) y homocedasticidad (H_m) se analizaron mediante una prueba F con HSD *post-hoc* de Tukey. En los casos de incumplimiento de N_m o H_m , se aplicaron varias transformaciones según el caso. Se utilizó un ANOVA con modificación de Welch como prueba ómnibus (los datos se transformaron para obtener la normalidad). Cuando se encontraron diferencias, se utilizó T - test tipo Welch con control del FDR (*False Discovery Rate*) por el método Benjamini - Hochberg para comparar las variables par a par.

Modelos lineales generalizados (GLM) se utilizaron para explorar la relación entre la prevalencia de *H. dratini* con la temperatura y la precipitación, y la longitud de las hembras con su estado de gravidez (presencia de huevos). En este último caso se empleó un GLM binomial para respuesta binaria ($y = 1$: hembra grávida, $y = 0$: hembra no grávida) que arroja la probabilidad de que una hembra se halle grávida en relación a su longitud. La fórmula es:

$$\text{logit}(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \beta_0 + \beta_1 L + \beta_2 L^2 + \varepsilon$$

donde p es la probabilidad de que la hembra esté grávida, L es la longitud de la hembra (mm) y β es el parámetro deseado, siendo ε un término de error aleatorio.

Se aplicó la misma fórmula para explorar la respuesta binaria ($y = 1$: presencia de parásitos, $y = 0$: ausencia de parásitos) que relaciona la probabilidad (Logit) de ser parasitado con respecto a la temperatura (T) y la lluvia acumulada (R):

$$\text{logit}(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \beta_0 + \beta_1 R + \beta_2 T$$

Coefficiente de correlación de Spearman empleado para relacionar el tamaño de las tortugas con la abundancia de parásitos.

Se utilizó un *T - test* para comparar las variaciones en la abundancia de *H. dratini* entre machos y hembras de *Hyd. tectifera*.

Los valores p inferiores a 0,05 se consideraron significativos en todos los casos; se realizaron análisis *post hoc* con valores p ajustados por el método Benjamini - Hochberg. Todos los análisis se realizaron utilizando la versión 3.6.1 de R, con los paquetes *Car* y *Tidyverse* (R Core Team 2017).

3.3 Resultados

3.3.1 Relación Parásitos - Tortugas

De las 160 tortugas *Hydromedusa tectifera* capturadas, 103 fueron machos y 57 hembras. Diez tortugas pertenecieron a la CT I (< 130 mm), 96 a la CT II (130 - 200 mm) y 54 a la CT III (> 200 mm). La variación estacional en la proporción de sexos de las tortugas (macho: hembra) favoreció a los machos en casi todas las estaciones: 1,1:1 (verano), 1,2:1 (otoño), 1:1 (invierno)

y 1,5:1 (primavera). Se recapturaron un total de 38 tortugas, de las cuales solo tres fueron recapturadas en una tercera oportunidad.

Se contabilizaron un total de 2059 individuos de *H. dratini* ($P = 65\%$; $IM = 14,92$) en *Hyd. tectifera*, de los cuales 1125 fueron machos ($P = 55\%$; $IM = 12,36$), y 934 hembras ($P = 45\%$; $IM = 10,61$) (Tabla 25). No se registraron diferencia entre la proporción de sexos durante el año ($\chi^2 = 25,6$; $gl = 1$; valor $p = 0,96$).

Tabla 25: Detalle de la población componente de *Hedruris dratini* en el hospedador definitivo e intermediario.

	<i>Hydromedusa tectifera</i>		<i>Hyalella spp.</i>
	(Contenido Estomacal)	(Fecas)	(Hemocel)
Nematodos machos	521	604	62
Nematodos hembras	522	412	50
Hospedadores infectados	72	66	90
Total hospedadores	160	160	800
Categoría	Adultos	Adultos	Larvas

No se observaron diferencias significativas en la prevalencia de *H. dratini* entre tortugas recapturadas y no recapturadas ($\chi^2 = 0,06$; $gl = 3$; valor $p = 0,81$). Por esta razón, se incluyeron las recapturas en todos los análisis posteriores.

No se observaron diferencias significativas en la prevalencia entre el sexo del hospedador a lo largo de las estaciones ($\chi^2 = 0,36$; $gl = 3$; valor $p = 0,95$). Tampoco se encontraron diferencias significativas en las prevalencias de parásitos entre las clases de tamaño del hospedador ($\chi^2 = 0,19$; $gl = 2$; valor $p = 0,90$), ni por sexo del hospedador ($\chi^2 = 0,02$; $gl = 1$; valor $p = 0,88$). La abundancia parasitaria no varió en relación con el sexo del hospedador ($T = -0,06$; $gl = 97,40$; valor $p = 0,94$). Por último, no se encontró ninguna relación entre el tamaño del hospedador y la abundancia de parásitos ($\rho = 0,14$).

La prevalencia de *H. dratini* en tortugas mostró diferencias estacionales significativas ($\chi^2 = 30,89$; $gl = 3$; valor $p = 8,96e-07$) (Fig. 51. A), siendo el verano la estación en donde se registró el mayor valor de prevalencia. La abundancia de *H. dratini* en las tortugas también mostró variaciones estacionales siendo el verano la estación que se diferenció del resto (valor $F = 15,92$; $gl = 3$; valor $p = 1,72e-07$). Así, el verano fue la estación con mayor prevalencia y abundancia.

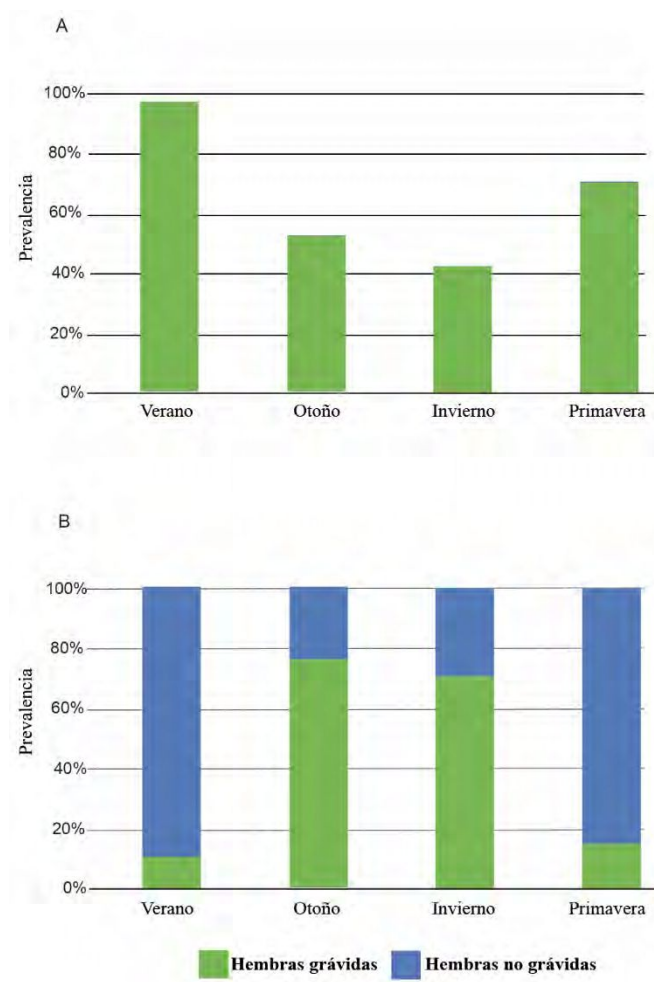


Figura 51: A. Prevalencia de *H. dratini* en tortugas por estación. B. Porcentaje relativo de hembras grávidas y no grávidas de *H. dratini* en cada estación.

Una vez identificado el verano como la estación clave, se identificó qué variable climática tenía mayor impacto en las prevalencias de *H. dratini*. El análisis GLM entre la temperatura y la precipitación acumulada (LogLik = -79,98; df = 3) mostró que la temperatura es la variable que más influye en las prevalencias de estos nematodos en las tortugas (Tabla 26).

Tabla 26: Relación entre la temperatura y las precipitaciones acumuladas con la prevalencia de *H. dratini*.

	Estimativo	Error estándar	p – valor
Intercepto	-3,05	0,62	9,44e-07
Lluvia acumulada	0,01	0,9e-02	0,19
Temperatura	0,21	0,04	1,55e-07

La longitud de los machos de *H. dratini* varió significativamente entre estaciones [F = 9,55; gl = (3; 336); valor p = 4,55e-06]. La prueba HSD de Tukey mostró que el verano es la estación

que se diferencia del resto por hallarse los individuos más pequeños. Se hallaron diferencias estacionales similares en la longitud de las hembras [$F = 21,93$; $gl = (3; 354)$; $p\text{-valor} = 4,74e-13$], aunque distinguiendo los tamaños más pequeños en verano y primavera de los más grandes en otoño e invierno.

Se encontraron diferencias significativas en la proporción de hembras grávidas - no grávidas entre estaciones ($\chi^2 = 195,67$; $gl = 3$; $\text{valor } p = 3,63e-42$) (Fig. 51 B), con una mayor proporción de hembras grávidas en las estaciones frías ($\approx 0,73$) que en las cálidas ($\approx 0,12$). Todas las hembras que alcanzaron los 7 mm de longitud estuvieron grávidas. El mejor modelo para predecir si una hembra estaba grávida fue el logístico, tanto para la presencia de huevos como para la longitud de la hembra (LogLik = $-87,02$; $gl = 2$) (Tabla 27).

Tabla 27: Probabilidad de que una hembra esté grávida según su tamaño.

	Estimador	Error estándar	p – valor
Intercepto	-26,14	4,35	1,87e-09
<i>Largo</i>	4,88	0,94	2,13e-07
<i>Largo</i> ²	-0,20	0,05	7,71e-05

3.3.2 Relación parásitos-anfípodos

De los 800 anfípodos examinados, 90 estuvieron parasitados por larvas de *H. dratini* localizadas en el hemocele ($P = 11\%$, $IM = 1,24$) (Tabla 25). No se encontraron otras especies de parásitos. La mayoría de los anfípodos estuvieron parasitados por una sola larva, pero en algunos casos se encontraron hasta tres larvas juntas en el mismo individuo. La prevalencia de larvas de *H. dratini* en los anfípodos fue del 18% en verano, del 4% en otoño, del 7% en invierno y del 15% en primavera (Fig. 52), mostrando diferencias significativas entre determinados pares: verano-otoño ($\chi^2 = 19,63$; $gl = 1$; $\text{valor } p = 9,39e-06$), verano-invierno ($\chi^2 = 10,88$; $gl = 1$; $\text{valor } p = 9,74e-04$), y primavera-otoño ($\chi^2 = 13,65$; $gl = 1$; $\text{valor } p = 2,09e-04$).

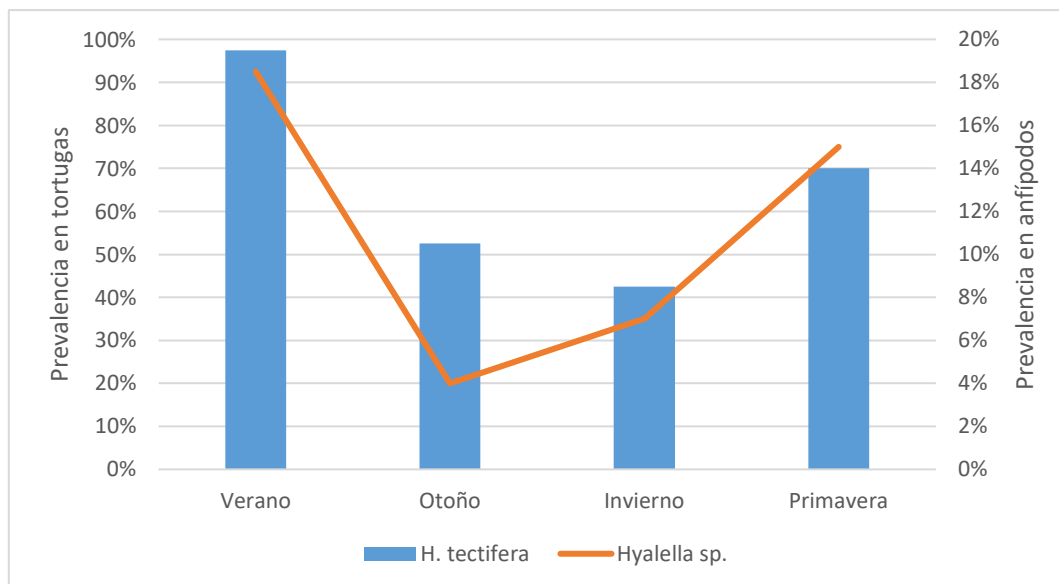


Figura 52: Porcentaje de tortugas y anfípodos parasitados con *H. dratini* por estación.

3.3.3 Dieta de las tortugas

Se identificaron 31 ítems presa en la dieta de *Hyd. tectifera* (Tabla 28). A pesar de la gran variedad de organismos consumidos por estas tortugas, los ítems más relevantes según el IIR fueron: larvas de quironómidos (100%), anfípodos (47%), oligoquetos terrestres (21,8%) y hemípteros acuáticos (12%). Los valores de IIR de las presas en la dieta variaron estacionalmente. Los valores más altos en verano fueron: anfípodos (100%) como elemento Fundamental, hemípteros acuáticos (68%) como elemento Secundario y cladóceros (35,98%) como elemento Accesorio. En otoño, el único ítem Fundamental (100%) lo constituyeron las larvas de quironómidos siendo de categoría Accidental el resto de los ítems. En invierno, las pupas de quironómidos fueron la única presa Fundamental (100%), seguidas de anfípodos (39,62%), oligoquetos terrestres (33,58%) y larvas de quironómidos (25,21%) como presas Accesorias. Por último, el IIR detectó un único elemento Fundamental (larvas de quironómidos: 100%), y dos Secundarios (oligoquetos terrestres: 61,1%, y anfípodos: 52,57%) en primavera (Fig. 53). El volumen total de presas consumido por tortuga por temporada fue: 53,92 ml (verano), 33,37 ml (otoño), 12,66 ml (invierno) y 65,48 ml (primavera).

Tabla 28: Dieta de *Hydromedusa tectifera* detallada por temporada. FN Frecuencia numérica, FO Frecuencia de ocurrencia, IIR Índice de importancia relativo. F = Fundamental. S = Secundario. A = Accidental.

Ítem alimenticio	Verano			Otoño			Invierno			Primavera		
	%FN	%FO	%IIR	%FN	%FO	%IIR	%FN	%FO	%IIR	%FN	%FO	%IIR
Annulata												
Hyrudinea	0,07	24,39	0,11	0,10	13,51	0,04	1,31	15,63	1,06	0,13	5,41	0,03
Oligochaeta	0,25	29,27	6,80	0,11	5,41	0,73	1,80	12,50	33,5 (A)	1,57	32,43	61 (S)
Anura												
Larva, fam. indet.										0,04	2,70	0,01
Artropoda, Chelicerata												
Araneidae	0,5e-02	2,44	0,00									
Acari, Hydrachnidia	0,5e-02	2,44	0,00									
Acari (terrestre), fam. indet.				0,01	2,70	0,00	0,16	3,13	0,02			
Arthropoda, Crustacea												
Amphipoda, Hyalellidae	11,05	73,17	100 (F)	2,85	56,76	3,61	22,09	37,50	39,6 (A)	26,13	72,97	52,5 (S)
Copepoda							0,49	9,38	0,17			
Cladocera	81,07	14,63	7,3 (A)							0,85	2,70	0,06
Ostracoda	0,38	19,51	0,50	0,86	21,62	0,16						
Isopoda	0,01	7,32	0,01							0,43	8,11	0,48
Arthropoda, Insecta, Hemiptera												
Heteroptera, Belostomatidae	0,75	65,85	68 (F)	0,15	27,03	1,49	1,47	6,25	2,99			
Heteroptera, Corixidae	0,034	14,63	0,09	0,01	2,70	0,00						
Heteroptera, Notonectidae							0,16	3,13	0,02			
Arthropoda, Insecta, Coleoptera												
Adulto (Dysticidae, Hydrophilidae)	0,14	24,39	1,36				0,16	3,13	0,02	0,09	2,70	0,02
Arthropoda, Insecta, Hymenoptera												
Formicidae	0,02	12,20	0,01	0,08	8,11	0,01				0,13	8,11	0,03
Adulto, fam. indet.	0,5e-2	2,44	0,00									
Arthropoda, Insecta, Diptera												
Ceratopogonidae (pupa)				0,48	10,81	0,05	0,16	3,13	0,02	0,09	2,70	0,07
Chironomidae (larva)	2,44	56,10	13,10	81,67	81,08	100 (F)	16,04	37,50	25,2 (A)	53,11	75,68	100 (F)
Chironomidae (pupa)	3,50	41,46	13,60	13,56	48,65	9,00	56,14	43,75	100 (F)	16,34	16,22	6,47
Culicidae (larva)	0,9e-02	4,88	0,00							0,18	5,41	0,07
Culicidae (pupa)	0,01	2,44	0,00									
Psychodidae (larva)	0,05	9,76	0,04	0,01	2,70	0,00				0,13	2,70	0,01
Syrphidae (larva)	0,01	4,88	0,04									
Stratiomidae (larva)	0,9e-02	4,88	0,00									
Adulto, fam. indet.	0,02	2,44	0,00	0,01	2,70	0,00						
Arthropoda, Insecta, Odonata												
Zigoptera larva, fam. indet.	0,05	12,20	0,02	0,05	2,70	0,00				0,13	5,41	0,02
Arthropoda, Insecta, Thysanoptera												
Adulto, fam. indet.	0,5e-02	2,44	0,00									
Cyprinodontiform (Pez)												
Anablepidae	0,02	2,44	0,07									
Mollusca, Gastropoda												
Ampullaridae										0,04	2,70	0,01
Hydrobiidae	0,02	9,76	0,01	0,01	2,70	0,00				0,21	10,81	0,07
Planorbidae	0,02	4,88	0,11	0,01	2,70	0,00				0,09	2,70	0,01

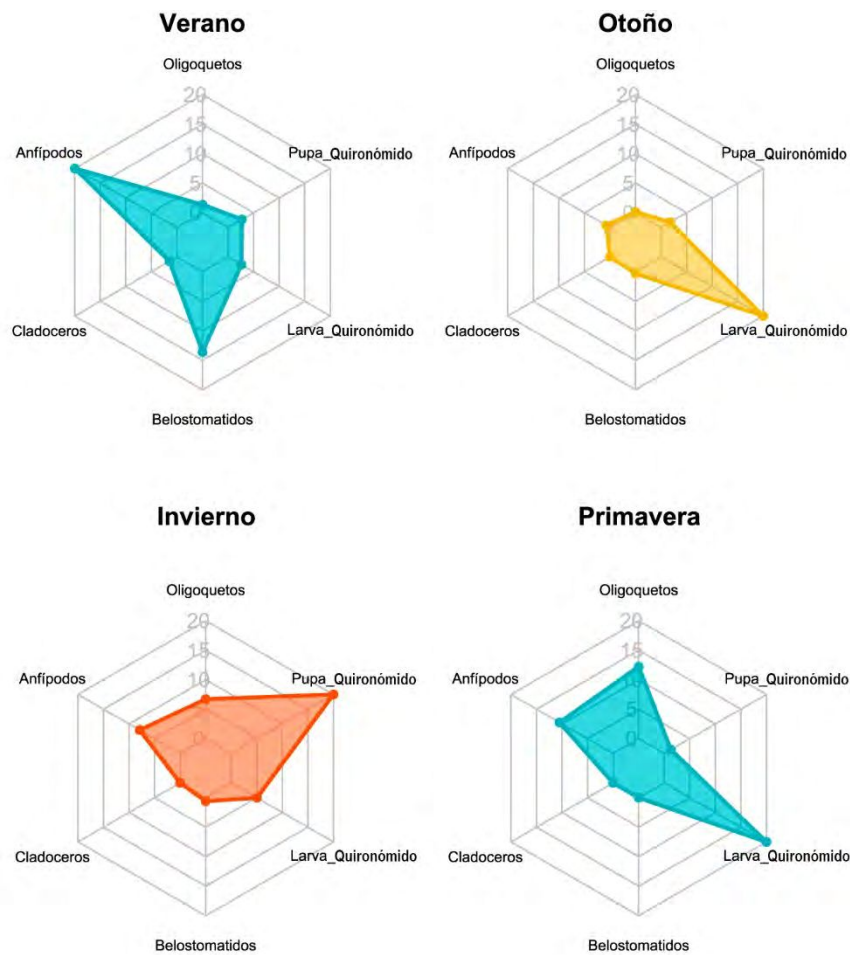


Figura 53: IRI de los principales ítems presa consumidos por *Hydromedusa tectifera* en las cuatro estaciones del año.

Los índices de la dieta (H_d) como de la oferta (H_o) difieren significativamente dentro de cada estación. Verano: 0,74 H_d frente a 1,71 H_o ($T = 13,03$; $gl = 2656$; $p\text{-valor} = 1,07e-37$); otoño: 0,64 H_d frente a 1,11 H_o ($T = 15,41$; $gl = 2275$; $\text{valor } p = 4,48e-53$); invierno: 1,22 H_d frente a 0,946 H_o ($T = 4,80$; $gl = 1336$; $\text{valor } p = 1,75e-06$); y primavera: 1,22 H_d frente a 0,62 H_o ($T = 16,78$; $gl = 2162$; $\text{valor } p = 1,64e-59$). En casi todos los casos, ambos índices H' difirieron significativamente entre estaciones (véase tabla 29).

Tabla 29: Diversidad en la dieta de las tortugas analizadas (H_d , lado izquierdo) y disponibilidad en el arroyo (H_o , lado derecho).

		H_o			
		Verano	Otoño	Invierno	Primavera
H_d	Verano		(T = 1,42 gl = 3994; p = 0,15)	(T = 4,38 gl = 1769; p = 1,24e-05)	(T = 12,70 gl = 3123; p = 4,22e-36)
	Otoño	(T = 6,49; gl = 17469; p = 8,69e-11)		(T = 3,37 gl = 1474; p = 7,57e-4)	(T = 12,18 gl = 2526; p = 3,02e-33)
	Invierno	(T = 11,57; gl = 663; p = 2,3e-28)	(T = 13,54; gl = 715; p = 2,31e-37)		(T = 6,49; gl = 1409; p = 1,14e-10)
	Primavera	(T = 21,38; gl = 3154; p = 6,83e-95)	(T = 23,98; gl = 3960; p = 8,06e-119)	(T = 0,12; gl = 950; p = 0,89)	

3.4 Discusión

3.4.1 Dinámica de la población de parásitos

La temperatura es un factor determinante para la dinámica poblacional de los helmintos parásitos. Van Cleave (1916), en su estudio sobre los acantocéfalos que parasitan a las tortugas de agua dulce en Norteamérica, observó que la mayoría de los parásitos mostraban variaciones estacionales con una mayor prevalencia en los meses más cálidos. Nuestro estudio coincide con los resultados del mencionado autor, ya que tanto la prevalencia como la abundancia de *H. dratini* fueron significativamente mayores en verano. Sin embargo, a pesar que se esperaba un resultado menor, la prevalencia de *H. dratini* en invierno puede considerarse elevada (un 43%),

Por otra parte, Dubinina (1949) observó que durante la hibernación de la tortuga *Testudo horsfieldii* Gray, 1844 en Tadzhhikistan, los nematodos juveniles seguían madurando a un ritmo más lento, mientras que los más viejos morían pronto en el periodo de inactividad. Además, afirmó que hay una reducción drástica de la abundancia de nematodos durante la hibernación de las tortugas. En cambio, nuestro estudio reveló que la presencia de hembras grávidas es mayor en otoño y en invierno que en las estaciones cálidas. Las diferencias observadas entre los resultados de Dubinina (1949) y los obtenidos en el presente estudio puede deberse a las condiciones climáticas. El invierno es sustancialmente más frío en esas latitudes que en el área de estudio de Argentina, lo que genera un mayor impacto en las tortugas terrestres aumentando sus períodos de latencia.

Tanto el tamaño del hospedador como la edad se proponen como factores que influyen en la presencia de parásitos (Esch y Gibbons 1967; Pereira *et al.* 2018). Esch & Gibbons (1967) en su estudio sobre *Chrysemys picta* (Schneider, 1783), observaron que las tortugas más viejas tenían una menor carga parasitaria que las más jóvenes. Proporcionaron dos posibles explicaciones: (1) la dieta de las tortugas más jóvenes tiende a ser más carnívora que la de las más viejas, que son principalmente herbívoras, lo que aumenta la posibilidad de adquirir helmintos parásitos; y (2) la respuesta inmunitaria es más débil en las tortugas inmaduras que en las adultas, lo que facilita la adquisición de parásitos. Por el contrario, *Hydromedusa tectifera* es una tortuga carnívora generalista a lo largo de todo su ciclo vital (Bonino *et al.* 2009; Alcalde *et al.* 2010), y en este trabajo no se encontraron diferencias significativas en la carga parasitaria entre las clases de tamaño de las tortugas estudiadas. Por lo tanto, la instalación de estos parásitos en sus hospedadores no parece estar relacionada ni con el espacio (tamaño) ni con la edad de las tortugas. El asentamiento de los parásitos parece depender de variables como el número de hospedadores intermediarios ingeridos por las tortugas, y quizás también con el estado de salud de las mismas, pero se necesitan más estudios para corroborar esta última hipótesis. Coincidimos con Esch & Gibbons (1967) en la necesidad de monitorear la variación de la dieta de los hospedadores entre temporadas para llegar a una mejor comprensión de la dinámica poblacional de los helmintos. Por ello, hemos incluido diferentes variables para analizar este fenómeno, abordando el problema desde una perspectiva holística.

La temperatura fue un factor clave para explicar la prevalencia de *H. dratini* en este ecosistema. En este sentido, el estado de torpor de *Hyd. tectifera* suele interrumpirse durante algunos días que resultan más cálidos. En estas ocasiones las tortugas abandonan su estado de letargo y se alimentan. Nuestros resultados de dieta revelaron que (1) la tasa de alimentación sufre un descenso durante los meses más fríos, pero nunca cesa, y (2) los anfípodos también están incluidos en el menú invernal de las tortugas, aunque en menor número que en verano. La prevalencia de anfípodos infectados por larvas de *H. dratini* si bien es menor en invierno (7%), sería suficiente para garantizar la continuidad del ciclo vital del parásito durante todo el año. Además, la proporción de sexos de *H. dratini* se mantiene constante a lo largo del año y no se ve alterada por las variaciones climáticas estacionales. Las hembras de *H. dratini* son más grandes que los machos, una característica que también se observó en varias especies del género (por ejemplo, Ibáñez & Córdova 1976; Brugni & Viozzi 2010; Rossin & Timi 2016). Existen diferencias en el tamaño medio de los machos y las hembras entre estaciones, siendo mayores en las estaciones frías y menores en las cálidas. Además, hay proporcionalmente más hembras grávidas en los meses fríos que en los cálidos. Esta variación estacional puede

explicarse por el número de subadultos más pequeños ingeridos durante la primavera y el verano, lo que disminuye el largo promedio de la población componente. Esos subadultos crecen y maduran durante el otoño y el invierno, aumentando la proporción de hembras grávidas durante las estaciones frías.

En cuanto a la reproducción, todos los parásitos poseen el potencial de reproducirse una vez dentro de la tortuga. Se encontraron machos de diferentes tamaños copulando con las hembras, y una vez fijados permanecieron enroscados alrededor de ellas. Todas las hembras mayores a 7 mm estuvieron grávidas. Este hecho nos lleva a hipotetizar que, si se encontraran machos y hembras mayores de 7 mm no grávidas en un mismo hospedador, o bien los machos pertenecen a otra especie, como *H. orestiae* Moniez, 1889 que coexisten con *H. dratini*; o bien los nematodos llegaron a un hospedador inapropiado y por lo tanto no puede reproducirse.

3.4.2 Fluctuaciones en la dieta de las tortugas

La dieta de *Hyd. tectifera* en Argentina se estudió en tres ocasiones: Bonino *et al.* (2009) en el que los autores estudiaron una población de tortugas en dos arroyos serranos (Toro Muerto y Tanti) en la provincia de Córdoba; Alcalde *et al.* (2010), quienes estudiaron la población de *Hyd. tectifera* del arroyo Buñirigo en la provincia de Buenos Aires, ubicado a 65 km al sur del arroyo Rodríguez (presente estudio) y Sánchez *et al.* (2021) el cual compara la dieta de *Hyd. tectifera* en dos arroyos urbanos de la ciudad de La Plata (Rodríguez y Carnaval). Las diferencias observadas en la dieta de las tortugas entre estas localidades responden evidentemente a las características de cada arroyo. Si bien las tortugas de Córdoba mostraron una dieta ligeramente más rica, ésta no fue tan diversa como se esperaría al compararla con la dieta de aquellas tortugas que viven en arroyos contaminados. La zona donde se realizó el estudio en el arroyo Buñirigo, está situado en una zona rural bajo la influencia de dos plantas industriales (curtiembres y alimentos manufacturados), además que allí *Hyd. tectifera* comparte hábitat con la tortuga *Phrynops hilarii*, lo que podría estar influyendo en su dieta (Alcalde *et al.* 2010). Por el contrario, *Hyd. tectifera* es la única especie de tortuga en la porción estudiada del arroyo Rodríguez, pero su dieta puede estar influenciada por el impacto de la contaminación causada por los vertidos de aguas residuales y basura de la ciudad circundante.

Bonino *et al.* (2009) observaron que los elementos más importantes en la dieta de *Hyd. tectifera* en los arroyos de Córdoba eran larvas de tricópteros (IIR = 33,50%), peces (RII = 30%) y náyades de odonatos (IIR = 25,20%), mientras que en el arroyo Buñirigo (Alcalde *et al.* 2010)

fueron quironómidos inmaduros (IIR = 100%), hemípteros acuáticos de las familias Corixidae (IIR = 50,90%) y Belostomatidae (IIR = 9,18%). En el presente trabajo, los elementos más importantes fueron los quironómidos inmaduros (IIR = 100%), los anfípodos (IIR = 47%), los oligoquetos terrestres (IIR = 21,80%) y los hemípteros acuáticos de la familia Belostomatidae (IIR = 12%). Por lo tanto, la dieta es más similar a la hallada por las tortugas del arroyo Buñirigo que a la de la población de Córdoba. Si se comparan los resultados aquí obtenidos con los de Sánchez *et al.* (2021) en el arroyo Rodríguez (el mismo que el presente estudio) y el arroyo Carnaval, podemos observar que se encontraron diferencias en la dieta de *Hyd. tectifera* entre arroyos, siendo más prevalentes los anfípodos (IIR = 100%), coleópteros (IIR = 86,88%) y los hemípteros acuáticos de la familia Belostomatidae (IIR = 55,72%) en el arroyo Rodríguez, siendo estos resultados similares con los registrados en este trabajo, y en el Carnaval se destacaron únicamente los gasterópodos del género *Pomacea* (IIR = 100%), ítem el cual no consumieron las tortugas del arroyo Rodríguez.

En trabajos anteriores se observaron cambios sutiles en la dieta de la especie entre los meses cálidos y fríos (Bonino *et al.* 2009; Alcalde *et al.* 2010). Estas observaciones coinciden con los presentes resultados, ya que los anfípodos fueron consumidos en mayor proporción que los quironómidos en los meses más cálidos, mientras que los quironómidos fueron la presa más elegida en las estaciones frías.

3.4.3 Dinámica del ciclo de vida

El ciclo de vida de *H. dratini* consta de tres etapas: 1- los huevos libres en el ambiente son consumidos por los anfípodos, 2- las larvas se desarrollan en el interior de los anfípodos hasta alcanzar el estado subadulto, y 3- las tortugas se infectan al alimentarse de anfípodos y los parásitos adultos copulan en el estómago de las tortugas antes de que las hembras liberen los huevos para completar el ciclo. Casalins *et al.* (2015) demostraron que los anfípodos infestados por larvas de *Hedruris suttonae* Brugni y Viozzi, 2010 muestran altos niveles de fotofilia. Los anfípodos altamente fotófilos están más expuestos a ser ingeridos que los no infectados, ya que tienden a nadar libremente. Por lo tanto, este comportamiento anómalo debería ser una explicación putativa también del exitoso ciclo de vida de *H. dratini*, nematode capaz de infectar a un más anfípodos y, en consecuencia, de tortugas. A medida que aumenta el número de tortugas infectadas, se liberan más huevos del parásito en el ambiente, lo que hace que más anfípodos infectados continúe el ciclo.

3.5 Conclusiones

Esch *et al.* (1979) estudiaron una población de *Chrysemys picta* (Pleurodira) en Norteamérica y encontraron que las infrapoblaciones de nematodos (*Camallanus* sp., *Spirogonura* sp.) no se mantenían en equilibrio durante el año, sino que las prevalencias variaban estación a estación, mientras que las infrapoblaciones de acantocéfalos (*Neoechinorhynchus* spp.) sí mantenían un equilibrio de reclutamiento y muerte de individuos. Las infrapoblaciones de *H. dratini* persiste durante todo el año en las tortugas aquí estudiadas, aunque con parámetros variables en cada estación, manteniendo una transmisión constante entre el hospedador intermediario y definitivo, en coincidencia con lo registrado por Esch *et al.* (1979).

La temperatura afecta a algunos aspectos del ciclo vital de *H. dratini* modificando el comportamiento de sus hospedadores; el aumento de la temperatura hace que las tortugas sean más activas, que se alimenten con más frecuencia y por lo tanto consuman más anfípodos infectados. Además, la población de anfípodos es más abundante en primavera y verano, y a pesar de descender, la prevalencia de *H. dratini* en los anfípodos es relativamente alta (4% - 7%) en las estaciones frías. En consecuencia, la población de *H. dratini* alcanza un pico de abundancia durante el verano y disminuye en invierno, pero su prevalencia se mantiene por encima del 40%, lo que permite una rápida recuperación cuando la temperatura comienza a subir. Esto es posible porque el invierno en la región bajo estudio no presenta condiciones extremas como en otras zonas, lo que permite a las tortugas seguir alimentándose y a los parásitos seguir dispersándose.

El estudio de las relaciones parásito-hospedador-ambiente nos permite comprender mejor la dinámica de las poblaciones de parásitos, proporcionando una valiosa información sobre los patrones bióticos y abióticos que afectan a sus distribuciones actuales y futuras.

Capítulo 4



Discusión general y conclusiones

Discusión general y conclusiones

La parasitofauna de las tortugas dulceacuícolas es un área poco explorada en la Argentina. Si bien, aún resta conocer que especies parasitan a *Mesoclemmys vanderhaegei* y *Phrynops geoffroanus*, los resultados de este trabajo constituyen un gran avance al conocimiento parasitológico para el resto de las especies de tortugas que habitan el país. Teniendo en cuenta la dificultad que implica el estudio de hospedadores completos, la aplicación de técnicas no invasivas en las tortugas (e.g. *flushing*), permitió recuperar varias especies de nematodos, resultando en una técnica especialmente informativa para aquellas especies hospedadoras del noroeste del país que presentan algún grado de amenaza o que aún hoy son insuficientemente conocidas (e.g. *Acanthochelys pallidipectoris* y *Kinosternon scorpioides*). A pesar que esta técnica no es útil para la recuperación de trematodos, la riqueza específica total de digeneos y nematodos recuperada por ambas técnicas fue similar, lo cual indica que, si se pudieran analizar hospedadores completos de dichas especies de tortugas, la riqueza de digeneos tendería a ser mayor. Los cestodes estuvieron representados por una única especie parasitando a *Hydromedusa tectifera* en las provincias de Buenos Aires y Córdoba. Respondiendo una de las preguntas iniciales de este trabajo de tesis ¿Qué especies parasitan a las tortugas de agua dulce en Argentina? Podemos afirmar que la helmintofauna de tortugas dulceacuícolas de Argentina es sumamente diversa, siendo los digeneos y los nematodos los taxones mejor representados, mientras que los cestodes solo se hallaron en una especie de tortuga.

Phrynops hilarii es la especie de tortuga con mayor distribución dentro del país y, en consecuencia, la especie hospedadora mejor estudiada en este trabajo de tesis, habiéndose obtenido muestras de diferentes localidades y ambientes. En la provincia de Buenos Aires presentó la mayor riqueza específica (siete especies), seguida por Corrientes (seis), Entre Ríos (cinco), Santa Fe (cuatro), Tucumán y Chaco, en donde solo se pudo registrar una especie parásita. En la mayoría de las provincias se observó la presencia en sintopía del nematode *Spiroxys contortus* con el digeneo *Telorchis birabeni*, sin embargo, esto no fue observado en Chaco y Tucumán, muy probablemente porque no se contó con suficiente material. Algunas especies parásitas se registraron en distintas localidades a lo largo de la distribución de *P. hilarii*, e.g. *Cheloniodiplostomum testudinis* (Buenos Aires, Corrientes y Santa Fe) y *Prionosomoides phrynopsis* (Entre Ríos, Santa Fe y Tucumán). Cabe destacar que algunas especies de helmintos como *S. contortus* son cosmopolitas, y se pueden encontrar en varios países del mundo y en

diferentes hospedadores (en su mayoría tortugas). Otras especies como *C. testudinis* y *T. birabeni* tienen una distribución más local, también parasitan a *P. hylarii* y otras especies de tortugas en Brasil y Uruguay (Mascarenhas & Müller 2021).

La región biogeográfica Pampeana cuenta con solo tres especies de tortugas en su distribución y, aun así, presentó la mayor riqueza de especies parásitas (13) en comparación con el resto de las regiones estudiadas. Este resultado probablemente esté sesgado ya que la mayoría de los muestreos se realizaron en esa provincia biogeográfica, por lo cual, se sospecha que el resto de las regiones esconda una fauna parasitaria aun mayor de la que se describió en este trabajo de tesis. En las regiones de Esteros del Iberá y Pampeana se documentaron más especies de digeneos (seis en cada una) que de nematodos (cinco y cuatro, respectivamente), contrariamente de lo que se registró en la provincia biogeográfica del Chaco, en la cual se hallaron más especies de nematodos (seis) que de digeneos (dos).

La tortuga *P. hylarii* utiliza los mismos hábitats que otras especies en diferentes provincias de Argentina, compartiendo también sus parásitos. Así, en la región Pampeana *P. hylarii* comparte tres especies parásitas con *H. tectifera* (*C. testudinis*, *H. dratini* y *S. contortus*), en la región de Esteros del Iberá comparte al nematode *C. spiculatus* con *A. spixii* y a *S. contortus* con *T. dorbignii*. También se observa el caso de *A. pallidipectoris* y *K. scorpioides* que en la región del Chaco registran una misma (y única) especie de nematode (Pharyngodonidae gen. sp.). En un estudio reciente llevado a cabo por Mascarenhas *et al.* (2021a), se comparó la fauna parasitaria de tres especies de tortugas dulceacuícolas en el sur de Brasil, en *A. spixii* registraron 11 especies de helmintos y en *H. tectifera* y *P. hylarii* se hallaron ocho especies. Encontraron que la comunidad de parásitos de *A. spixii* estaba más asociada a *H. tectifera* que a *P. hylarii*. En este trabajo de tesis se registró una mayor cantidad de especies compartidas entre *H. tectifera* y *P. hylarii* (3 especies).

Como se demostró para el caso del nematode *H. dratini* en *H. tectifera*, existe una clara asociación entre la dieta de las tortugas y sus parásitos. Ferguson y Smales (2006) identificaron 11 especies de helmintos asociados a *Emydura macquarii* (Gray, 1830) y sugirieron que la presencia de estos parásitos estaba asociada a la dieta de la tortuga, ya que la mayoría de las especies involucran hospedadores intermediarios que son consumidos por las tortugas. Asimismo, Mascarenhas *et al.* (2021a) observaron una importante asociación entre dieta y parásitos y remarcaron la relación positiva entre una dieta más generalista y una mayor riqueza parasitaria. Además, así como se puede inferir qué parásitos presentará determinado hospedador a partir de las presas que consume, también se puede inferir la dieta de un hospedador a partir de los parásitos que alberga, siendo cada uno de ellos un indicador

indirecto de determinado ítem presa. Esta asociación también pudo observarse en los arroyos de Córdoba, donde las *H. tectifera* estudiadas por Bonino *et al.* (2009), consumieron una alta proporción de larvas de odonatos, las cuales son hospedadores intermediarios de *S. contortus* (Hedrick 1935), generando así un alto porcentaje de tortugas infectadas con esta especie parásita.

Los ambientes disturbados por el hombre parecen alterar la carga y la abundancia parasitaria de las tortugas. En este sentido, se observaron diferencias en la parasitofauna de las tortugas de ambientes disturbados (e.g. arroyo Rodriguez) y la parasitofauna de poblaciones de tortugas de arroyos más prístinos (e.g. arroyo Buñirigo). En el estudio realizado por Mascarenhas *et al.* (2021b) se sugiere que el impacto humano podría afectar la dinámica de las infrapoblaciones de las especies de parásitos influyendo en sus prevalencias y en las tasas de infección de los helmintos, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en esta tesis.

El factor que parece tener mayor efecto sobre la parasitofauna es la temperatura. El aumento de la temperatura ambiental brinda el escenario ideal para el desarrollo del ciclo de vida de los parásitos, hallándose éstos en altas abundancias y prevalencias, tanto en sus hospedadores intermediarios como en los definitivos. Van Cleave (1916) también observó esta influencia de la temperatura sobre los acantocéfalos en tortugas dulceacuícolas en Norte América. Por este motivo, la estación más propicia para los parásitos en las tortugas de agua dulce parece ser el verano, donde las temperaturas son altas.

Sumario:

- Se analizaron un total de 478 tortugas de las cuales se recuperaron 6071 endoparásitos.
- Se registraron dos taxa de coccidios y 23 especies de helmintos (un cestode, 11 digeneos y 11 nematodes). No se hallaron monogeneos ni acantocéfalos.
- Se describieron cuatro especies nuevas para la ciencia: un digeneo y tres nematodes.
- En relación a los helmintos se aportaron 14 nuevas asociaciones parásito-hospedador y 30 nuevos registros geográficos para Argentina.
- Se registraron por primera vez parásitos para *Acanthochelys pallidipectoris* y *Phrynosoma williamsi*, dos especies bajo algún grado de amenaza.
- Se describió la dinámica poblacional de *H. dratini* en *H. tectifera* y se evidenció la influencia de la temperatura en los ciclos de vida tanto del parásito como de los hospedadores intermediarios y definitivos.

Bibliografía



Bibliografía citada

- Achatz TJ, Brito ES, Fecchio A, Tkach VV (2021)** Description and phylogenetic position of a new species of *Herpetodiplostomum* from *Phrynops geoffroanus* in Brazil and a reevaluation of *Cheloniodiplostomum*. *Journal of Parasitology* 107: 455–462
- Ailán-Choke LG, Pereira FB (2021)** Deep in the systematics of Camallanidae (Nematoda): using integrative taxonomy to better understand the phylogeny and consistency of diagnostic traits. *Parasitology* 3: 1–13
- Alcalde L, Derocco NN, Rosset SD (2010)** Feeding in Syntopy: Diet of *Hydromedusa tectifera* and *Phrynops hilarii* (Chelidae). *Chelonian Conservation and Biology* 9: 33–44
- Alho CJR (1964)** Dois novos hospedadores de *Nematophila grande* (Diesing, 1839) (Trematoda, Paramphistomoidea). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi: Serie Zoologia* 52: 1–4
- Altizer S, Dobson A, Hosseini P, Hudson P, Pascual M, Rohani P (2006)** Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters* 9: 467–484
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ (1997)** Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* 25: 3389–3402
- Anderson RC (2000)** *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission*. CABI Publishing, Wallingford
- Anderson R, Chabaud A, Willmott S (2009)** *Keys to the Nematode Parasites of vertebrates*. CAB International, Wallingford
- Arana MD, Natale E, Ferretti N, Romano G, Oggero A, Martínez G, Posadas P, Morrone JJ (2021)** *Esquema biogeográfico de la República Argentina*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán
- Assmann BR, Silva JEA, Marinho JR (2013)** Feeding Analysis of Freshwater Turtles in Coastal Shallow Lakes in Rio Grande, RS. *Vivências* 9: 36–52
- Avila RW, Brito ES, Barrella TH, Strüssmann C, Silva RJ (2010)** Endoparasites new to the Neotropical freshwater turtle *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973) (Testudines, Chelidae), from central Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 5: 478–480
- Avise JC (1994)** *Molecular markers, natural history and evolution*. Chapman and Hall, New York

- Bager A, Silva Lucas P, Costa A, Santos Lima JC, Silveira ML (2016)** Morphology and sexual dimorphism of *Acanthochelys spixii* (Testudines, Chelidae) in Brazil. *Tropical Zoology* 29: 73–86
- Baird W (1858)** Description of two new species of Entozoa. *Proceedings of the Zoological Society of London* 26: 224–225
- Baker MR (1986)** *Falcaustra* species (Nematoda: Kathlaniidae) parasitic in turtles and frogs in Ontario. *Canadian Journal of Zoology* 64: 228–237
- Baldo D, Martínez P, Boeris JM, Giraudo A (2007)** Reptilia, Chelonii, Chelidae, *Phrynops geoffroanus* Schweigger, 1812 and *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973): Distribution extension, new country record, and new province records in Argentina. *Check List* 3: 348–352
- Bauer DE, Donadelli J, Gómez N, Licursi M, Ocón C, Paggi AC, Rodríguez Capítulo A, Tangorra M (2002)** Ecological status of the Pampean plain streams and rivers (Argentina). *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen* 28: 259–262
- Bautista-Hernández CE, Monks S, Pulido-Flores G, Rodríguez-Ibarra AE (2015)** Revisión bibliográfica de algunos términos ecológicos usados en parasitología, y su aplicación en estudios de caso. *Estudios en biodiversidad* 1: 11-19
- Bernardon FF, Valente AL, Müller G (2013)** Gastrointestinal helminths of the Argentine side-necked turtle, *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines, Chelidae) in south Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 8: 55–57
- Bernardon FF, Valente AL, Müller G (2014)** Gastrointestinal helminths of *Trachemys dorbignii* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines, Emydidae) from artificial urban ponds in southern Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Science* 9: 54–57
- Berry JF, Iverson JB (2011)** *Kinosternon scorpioides* (Linnaeus, 1766) – Scorpion Mud Turtle. *Chelonian Research Monographs* 5: 1–15
- Bolek MG, Coggins JR (2000)** Seasonal occurrence and community structure of helminth parasites from the Eastern American Toad, *Bufo americanus americanus*, from Southeastern Wisconsin, USA. *Comparative Parasitology* 67:202
- Bonin F, Devaux B, Dupré A (2006)** *Tortugas del Mundo*. Lynx, Barcelona

- Bonino MF, Lescano JN, Haro JG, Leynaud GC (2009)** Diet of *Hydromedusa tectifera* (Testudines-Chelidae) in a mountain stream of Córdoba province, Argentina. *Amphibia-Reptilia* 30: 545–554
- Bonfield JK, Smith KF, Staden R (1995)** A new DNA sequence assembly program. *Nucleic Acids Research* 23: 4992–4999
- Borteiro C, Kolenc F, Prigioni C (2015)** A new noteworthy record of *Phrynops williamsi* Rhodin & Mittermeier (Testudines, Chelidae) in Uruguay. *Cuadernos de Herpetología* 29: 95–96
- Brasil MA, Freitas Horta G, Fraxe Neto H, Oliveira Barros T, Colli GR (2011)** Feeding Ecology of *Acanthochelys spixii* (Testudines, Chelidae) in the Cerrado of Central Brazil. *Chelonian Research Foundation* 10: 91–101
- Brito ES, Souza FL, Strüssmann C (2016)** Feeding habits of *Mesoclemmys vanderhaegei* (Testudines: Chelidae). *Acta Herpetologica* 11: 1–13
- Brito ES, Vogt RC, Valadao RM, Franca LF, Penha J, Strüssmann C (2018)** Population Ecology of the Freshwater Turtle *Mesoclemmys vanderhaegei* (Testudines: Chelidae). *Herpetological Conservation and Biology* 13: 355–365
- Brower J, Zar J (1977)** *Field and laboratory methods for general ecology*. WMC Brown Company Publisher, USA
- Brugni NL, Viozzi GP (2010)** A new hedrurid species (Nematoda) from galaxiid fishes in Patagonia (Argentina), and infection of amphipods as intermediate host. *Journal of Parasitology* 96: 109–115
- Bujes CS, Molina FB, Verrastro L (2011)** Population characteristics of *Trachemys dorbignii* (Testudines, Emydidae) from delta do Jacuí state park, Rio Grande do Sul, southern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 6: 27–34
- Bullard SA, Roberts JR, Warren MB, Dutton HR, Whelan NV, Halanych KM (2019)** Neotropical turtle blood flukes: two new genera and species from the Amazon river basin with a key to genera and comments on a marine-derived parasite lineage in South America. *Journal of Parasitology* 105: 497–523
- Burse CR, Goldberg SR (2000)** *Hedruris hanleyae* n. sp. (Nematoda: Hedruridae) from *Hemidactylus garnotii* (Sauria: Gekkonidae) from the Cook Islands, Oceania. *Journal of Parasitology* 86: 556–559

- Bush AO, Lafferty KD, Font JM, Shostak AW (1997)** Parasitology meets ecology: definitions, clarifications, examples and Margolis *et al.* revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575–583
- Bush AO, Fernandez JC, Esch GW, Seed JR (2001)** *Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge university press, New York
- Cabrera M (1998)** *Las tortugas continentales de Sudamérica Austral*. Privately printed, Córdoba
- Cabrera MR, Böhm S (2015)** The identity of a controversial Neotropical turtle hatchling (Reptilia: Testudines: Chelidae). *Herpetological Review* 46: 510–512
- Cajade R, Marangoni F, Piñeiro JM, Álvarez BB (2014)** Confirmación de la presencia de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudines, Chelidae) en la provincia de Misiones, Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 28: 165–167
- Cagle FR (1939)** A system of marking turtles for future identification. *Copeia* 1939: 170–173
- Campião KM, Ribas A, Tavares LER (2015)** Diversity and patterns of interaction of an anuran-parasite network in a neotropical wetland. *Parasitology* 142: 1751–1757
- Carvalho MR *et al.* (2005)** Revisiting the taxonomic impediment. *Science* 307: 353
- Carlson CJ, Dallas TA, Alexander LW, Phelan AL, Phillips AJ (2020)** What would it take to describe the global diversity of parasites? *Proceedings of the Royal Society* 287: 20201841
- Cassano MJ (2017)** Restricción de la distribución de *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973) (Testudines: Chelidae) en Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 31: 25–27
- Catto JB, Amato JFR (1993)** Two new species of *Pseudotelorchis* (Digenea, Telorchidae) parasites of the caiman, *Caiman crocodylus yacare* (Reptilia, Crocodylia) from the Pantanal Mato-Grossense, Brazil. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* 88: 561–566
- Chaviel BM, Mascarenhas CS, Bernardon FF, Coimbra MAA, Müller G (2020)** New records of helminths in Chelidae freshwater turtles (Testudines) in South America. *Revista Brasileira de Zootecias* 21: 1–11
- Chaudhary A, Verma C, Tomar V, Singh, HS (2017)** *Procamallanus spiculogubernaculus* Agarwal, 1958 (Nematoda: Camallanidae) from Stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* in India: morphological characterization and molecular data. *Helminthologia* 54: 68–76
- Choudhury A, Nadler SA (2018)** Phylogenetic relationships of spiruromorph nematodes (Spirurina: Spiruromorpha) in North American freshwater fishes. *Journal of Parasitology* 104: 496–504

- Ciccheto JRM, Stabile BHM, Fermino F, Fabrin TMC, Oliveira AV, Takemoto RM, Graca RJ (2021)** Molecular evidence of new freshwater turtle blood flukes (Digenea: Spirorchidae) in the intermediate snail host *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 in an urban aquatic ecosystem in Brazil. *Parasitology Research* 120: 133–143
- Clavijo-Baquet S, Magnone L (2017)** Daily and seasonal basking behavior in two South American freshwater turtles, *Trachemys dorbigni* and *Phrynops hilarii*. *Chelonian Conservation and Biology* 16: 62–69
- Clayton DH, Moore J (1997)** *Host-Parasites evolution: General principles & avian models*. Oxford university press, New York
- Cordero EH (1946)** *Ophiotaenia cohospes* n. sp. de la tortuga fluvial *Hydromedusa tectifera* Cope, una larva plerocercarioide en el parénquima de *Temnocephala brevicornis* Mont. y su probable metamorfosis. *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* 2: 1–15
- Costello MJ, Wilson S, Houlding B (2012)** Predicting total global species richness using rates of species description and estimates of taxonomic effort. *Systematic Biology* 61: 871–883
- Costello MJ, May RM, Stork NE (2013)** Can We Name Earth's Species Before They Go Extinct? *Science* 339: 413–416
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012)** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772
- Dallas T, Holian LA, Foster G (2020)** What determines parasite species richness across host species? *Journal of Animal Ecology* 89: 1750–1753
- Demkowska-Kutrzepa M, Szczepaniak K, Rocze-Karczmarz M, Palumbo EO, Studzinska M, Rózanski P, Tomczuk K (2021)** The first case of *Spiroxys contortus* in European pond turtle (*Emys orbicularis*) in the wild in Poland. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 16: 26–29
- Derocco NN, Alcalde L, Rosset SD (2005)** Ampliación de la distribución de *Phrynops hilarii* (Pleurodira: Chelidae) en Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 19: 63
- De Sousa A, Jorge F, Carretero MA, Harris DJ, Roca V, Perera A (2018)** The importance of integrative approaches in nematode taxonomy: the validity of *Parapharyngodon* and *Thelandros* as distinct genera. *Journal of Helminthology* 93: 1–13
- Díaz-Ungria C (1978)** Helmintos parásitos de vertebrados en el Estado Zulia. Algunas especies nuevas para Venezuela. *Kasmera* 6: 207–233

- Di Pietro DO, Alcalde L, Williams JD, Cabrera MR (2012)** *Hydromedusa tectifera* (South American snake-necked turtle). *Herpetological Review* 43: 303
- Dobbin Jr. JE (1957)** Sobre uma nova especie do genero “*Telorchis*” Lueh, 1900 (Trematoda: Telorchidae). *Revista Brasileira de Biologia* 17: 509-512
- Dobson A, Lafferty KD, Kuris AM, Hechinger RF, Jetz W (2008)** Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 11482–11489
- Dubois G (1936)** Les diplostomes de reptiles (Trematoda: Proterodiplostomidae nov. fam.) du Musée de Vienne. *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* 61: 5–80
- Dubois G (1968)** *Synopsis des strigeidae et des diplostomatidae (Trematoda)*. Mémoires de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles: Vol X. Université de Neuchatel, Switzerland
- Dubois G (1978)** Notes Helminthologiques IV: Strigeidae Railliet, Diplostomidae Poirier, Proterodiplostomidae Dubois et Cyathocotylidae Poche (Trematoda). *Revue suisse de zoologie* 85: 607–615
- Dubois G (1979)** Révision et nouvelle clé de détermination des Diplostomes de Reptiles (Trematoda: Proterodiplostomidae Dubois, 1936). *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* 102: 39–48
- Dubois G (1982)** Répertoire des synonymes récents de genres et d'espèces de la superfamille des Strigeoidea Railliet, 1919 (Trematoda). *Bulletin de la Société Neuchâteloise des Sciences Naturelles* 105: 163–183
- Duszynski DW, Morrow JJ (2014)** *The biology and identification of the coccidia (Apicomplexa) of turtles of the world*. Elsevier, London
- Dutton HR, Warren MB, Bullard SA (2019)** New Genus and Species of Turtle Blood Fluke (Platyhelminthes: Digenea: Schistosomatoidea) Infecting Six-Tubercled Amazon River Turtles, *Podocnemis sextuberculata* (Pleurodira: Podocnemididae) from the Amazon River Basin (Peru). *Journal of Parasitology* 105: 671–685
- Esch GW, Gibbons JW, Bourque JE (1979)** The distribution and abundance of enteric helminths in *Chrysemys s. scripta* from various habitats on the Savannah River Plant in South Carolina. *Journal of Parasitology* 65: 624-632
- Evenhuis NL (2007)** Helping to solve the “other” taxonomic impediment: Completing the eight steps to total enlightenment and taxonomic nirvana. *Zootaxa* 1407: 3–12

- Fagundes CK, Bager A, Zanini Cechin ST (2010)** *Trachemys dorbigni* in an anthropic environment in southern Brazil: I) Sexual size dimorphism and population estimates. *Herpetological Journal* 20: 185–193
- Ferguson MA, Smales LR (2006)** Helminth Assemblages of the Turtle *Emydura macquarii* (Pleurodira: Chelidae) Queensland, Australia. *Journal of Parasitology* 1: 186–188
- Fernandes BMM, Kohn A (2014)** *South American trematodes parasites of amphibians and reptiles*. Oficina de Livros, Rio de Janeiro
- Ferreira AC (2015)** Respuestas poblacionales de macroinvertebrados a distintas calidades de agua en cuerpos lóticos de la llanura pampeana. Tesis: Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires
- Ferreira WR, Paiva LT, Callisto M (2011)** Development of a benthic multimetric index for biomonitoring of a Neotropical watershed. *Brazilian Journal of Biology* 71: 15–25
- Ferreira WR, Ligeiro R, Macedo DR, Hughes RM, Kaufmann PR, Oliveira LG, Callisto M (2014)** Importance of environmental factors for the richness and distribution of benthic macroinvertebrates in tropical headwater streams. *The Society for Freshwater Science* 33: 860–871
- Fischathal JH, Kuntz RE (1975)** Some Trematodes of Amphibians and Reptiles from Taiwan. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 42: 1–13
- Floyd RM, Rogers AD, Lambshead JD, Smith CR (2005)** Nematode-specific PCR primers for the 18S small subunit rRNA gene. *Molecular Ecology Notes* 5: 611–612
- Font WF, Lotz JM (2009)** Family Telorchiiidae Looss, 1899. En: *Keys to the nematode parasites of vertebrates. Archival volume*. Anderson RC, Chabaud AG, Willmott S. CAB International, Londres
- Freitas JFT, Dobbin Jr. JE (1959)** *Telorchis diaphanus* sp. n. trematódeo parasito de quelônio. *Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco* 16: 191–199
- Freitas JFT, Dobbin Jr. JE (1962)** Novo nematódeo camalanídeo parasito de quelônio. *Atas de la Sociedad Biologica de Rio de Janeiro* 6: 5–7
- Freitas JFT, Dobbin Jr. JE (1967)** Sobre um novo trematódeo Echinostomatidae parasito de quelônio. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 65: 37–39
- Freitas JFT, Dobbin Jr. JE (1971)** Contribuição ao conhecimento da fauna helmintológica de quelônios no estado de Pernambuco, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 69: 33–39

- Gagno S (2006)** *Parasitologie des Chéloniens Helminthes*. Soptom editions, Gorfaron
- Gau RJ, Kutz S, Elkin B (1999)** Parasites in Grizzly Bears from the Central Canadian Arctic. *Journal of Wildlife Diseases* 35: 618-621
- Gibson DI, Jones A, Bray RA (2002)** *Keys to the Trematoda Vol. I*. CAB International and Natural History Museum, London
- Gotelli NJ, Colwell RK (2001)** Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology letters* 44: 379-391
- Hahn AT, Rosa CA, Bager A, Krause L (2013)** Dietary variation and overlap in D'Orbigny's slider turtles *Trachemys dorbigni* (Duméril and Bibron, 1835) (Testudines: Emydidae). *Journal of Natural History* 48: 721-728
- Harnoster F, Svitin R, Du Preez L (2019)** *Serpinema cayennensis* n. sp. (Nematoda: Camallanidae), a parasite of the freshwater turtle *Rhinoclemmys punctularia* Daudin (Reptilia: Testudines: Geoemydidae) from French Guiana: morphology and phylogenetic relationships with other turtle-parasitising camallanids. *Zootaxa* 4679: 181-193
- Hasegawa H, Otsuru M (1979)** Life history of an amphibian nematode, *Hedruris ijimai* Morishita, 1926 (Hedruridae). *Japan Journal of Zoology* 28: 89-97
- Hedrick L (1935)** The Life History and Morphology of *Spiroxys contortus* (Rudolphi); Nematoda: Spiruridae. *Transactions of the American Microscopical Society* 54: 307-335
- Hudson PJ (2002)** *Parasites, diversity and the ecosystem*. En: *Parasitism & Ecosystems*. Thomas F, Renaud F, Guégan JF. Oxford University Press, New York
- Hudson PJ, Dobson AP, Lafferty KD (2006)** Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology and Evolution* 21: 381-385
- Ibañez N, Córdova BE (1976)** Cuatro especies nuevas de nematodos del sur del Perú y redescrición de *Hedruris orestiae* Moniez, 1889. *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz* 74: 231-254
- Iverson JB (1992)** *A revised checklist with distribution maps of the turtles of the world*. Impresión privada, Indiana
- Klemm, DJ, Blocksom KA, Fulk FA, Herlihy AT, Hughes RM, Kaufmann PR, Peck DV, Stoddard JL, Thoeny WT, Griffith MB, Davis WS (2003)** Development and evaluation of a macroinvertebrate biotic integrity index (MBII) for regionally assessing Mid-Atlantic highlands streams. *Environmental Management* 31: 656-669

- Kohn A, Cohen SC (1998)** South American Monogenea—List of species, hosts and geographical distribution. *International Journal for Parasitology* 28: 1517–1554
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016)** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870–1874
- Kunz TS, Ghizoni-Jr. IR, Cherem JJ, Bressan RF, Leonardi SB, Zanotelli JC (2018)** New records, threats and conservation of *Phrynops williamsi* (Testudines: Chelidae) in Southern Brazil. *Herpetology Notes* 11: 147–152
- Lainson R, Shaw JJ (1971)** *Sarcocystis gracilis* n. sp. from the Brazilian tortoise *Kinosternon scorpioides*. *Journal of Protozoology* 18: 365–372
- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, et al. (2007)** Clustal Wand Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947–2948
- Legler JM (1977)** Stomach flushing: a technique for Chelonian dietary studies. *Herpetologica* 33: 281–284
- Lenis C (2009)** Trematodos digeneos (*Platyhelminthes*) y moluscos asociados a *Podocnemis lewyana* y *Trachemys callirostris callirostris* (*Testudinata*) en la Depresión Momposina, Colombia. Universidad de Antioquia, Colombia
- Lescano JN, Bonino MF, Leynaud GC (2008)** Density, population structure and activity pattern of *Hydromedusa tectifera* (Testudines-Chelidae) in a mountain stream of Córdoba province, Argentina. *Amphibia-Reptilia* 29: 505–512
- Littlewood DTJ (1994)** Molecular phylogenetics of cupped oysters based on partial-28S ribosomal-RNA gene-sequences. *Molecular Phylogenetic Evolution* 3: 221–229
- Littlewood DTJ, Curini-Galletti M, Herniou EA (2000)** The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetic Evolution* 16: 449–466
- Liu D (2011)** *Molecular detection of human bacterial pathogens*. CRC Press, New York
- Lombardero OJ, Moriena A (1977)** Nuevos trematodos para la Argentina en *Phrynops hilarii* (Duméril y Bibron). *Revista de Medicina Veterinaria* 58: 64–68
- López MS, Sione W, Leynaud GC, Prieto YA, Manzano AS (2013)** How far from water? Terrestrial dispersal and nesting sites of the freshwater turtle *Phrynops hilarii* in the floodplain of the Paraná River (Argentina). *Zoological Science* 30: 1063–1069

- Luque JL, Vieira FM, Herrmann K, King TM, Poulin R, Lagrue C (2010)** New evidence on a cold case: trophic transmission, distribution and host-specificity in *Hedruris spinigera* (Nematoda: Hedruridae). *Folia Parasitologica* 57: 223–231
- MacCallum (1921)** *Studies in helminthology*. Zoopathologica, New York
- McAllister CT, Bursey CR, Freed PS (2010) (a)** Helminth Parasites of selected Amphibians and Reptiles from the Republic of Ecuador. *Comparative Parasitology* 77:52–66
- McAllister CT, Bursey CR, Freed PS (2010) (b)** Helminth Parasites (Cestoidea: Nematoda) of select Herpetofauna from Paraguay. *Journal of Parasitology* 96: 222–224
- Magurran AE (1988)** *Ecological diversity and its measurements*. Princeton University Press, Princeton
- Mañé-Garzón F, Gil O (1961) (a)** Trematodos de las tortugas del Uruguay II. *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* 97: 1–13
- Mañé-Garzón F, Gil O (1961) (b)** Trematodos de las tortugas del Uruguay IV: Tres nuevas especies del género *Telorchis* Luhe, 1900. *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* 90: 1–14
- Mañé-Garzón F, Gil O (1962)** Trematodos de las tortugas del Uruguay V: *Iagotrema uruguayensis* n. gen., n. sp. Monogenea Monopisthocotylea de la vejiga urinaria de *Hydromedusa tectifera* (Cope). *Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* 7: 1–15
- Mañé-Garzón F, Holcman-Spector (1968)** Trematodos de las tortugas del Uruguay VII: Una nueva especie del género *Telorchis* (Lühe, 1900) del intestino de *Pseudemys dorbigni* (Dum. & Bib.). *Comunicaciones zoológicas del museo de historia natural de Montevideo* 9: 1–4
- Mañé-Garzón F, Holcman-Spector (1969)** Trematodos de las tortugas del Uruguay IX: Tres nuevas especies del género *Herpetodiplostomum* Dubois, 1936. *Comunicaciones zoológicas del museo de historia natural de Montevideo* 126: 1–4
- Mañé-Garzón F, Holcman-Spector (1973)** Trematodos de las tortugas del Uruguay X: *Telorchis achavali* n. sp. del intestino delgado de *Pseudemys dorbigni* (D. & B.). *Revista de Biología del Uruguay* 1: 5–9
- Martins FI, de Souza FL, Moreira da Costa HT (2010)** Feeding habits of *Phrynops geoffroanus* (Chelidae) in an urban river in Central Brazil. *Chelonian Conservation and Biology* 9: 294–297

- Mascarenhas CS (2014)** *Helminhos de Trachemys dorbignii (Duméril & Bibron, 1835) (Emydidae) em ambientes antrópicos*. Tesis: Universidade Federal de Pelotas, Pelotas
- Mascarenhas CS, Souza JD, Coimbra MA, Müller G (2013)** Nematodes parasites of Chelidae (Testudines) from Southern Brazil. *Parasitology research* 112: 3365–3368
- Mascarenhas CS, Bernardon FF, Müller G (2016) (a)** Intestinal digeneans of freshwater turtles *Phrynops hilarii* and *Acanthochelys spixii* (Testudines: Chelidae) from southern Brazil. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87: 35–41
- Mascarenhas CS, Henzel ABD, Müller G (2016) (b)** Larvae of *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) and *Contracecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in freshwater turtles (Testudines: Chelidae) from Southern Brazil. *Neotropical Helminthology* 11: 61–67
- Mascarenhas CS, Müller G (2013)** *Telorchis* spp. (Digenea: Telorchidae) in *Trachemys dorbignii* (Duméril & Bibron, 1835) (Testudines: Emydidae) in Southern Brazil. *Neotropical Helminthology* 7: 201–210
- Mascarenhas CS, Müller G (2015) (a)** Third-stage larvae of the enoplid nematode *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) in the freshwater turtle *Trachemys dorbignii* from Southern Brazil. *Journal of Helminthology* 89: 630–635
- Mascarenhas CS, Müller G (2015) (b)** *Spiroxys contortus* (Gnathostomatidae) and *Falcaustra affinis* (Kathlaniidae) from *Trachemys dorbignii* (Emydidae) in Southern Brazil. *Comparative Parasitology* 82: 129–136
- Mascarenhas CS, Müller G (2017)** *Camallanus emydidius* n. sp. (Nematoda: Camallanidae) in *Trachemys dorbignii* (Dumeril & Bibron, 1835) (Testudines: Emydidae) from Southern Brazil. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 6: 108–114
- Mascarenhas CS, Müller G (2021)** Checklist of helminths associated with continental Testudines from South América. *Neotropical Helminthology* 15: 97–126
- Mascarenhas CS, Chaviel BM, Bernardon FF, Wolter JH, Coimbra MAA, Müller G (2021) (a)** Gastrointestinal helminths associated with three species of freshwater turtles in the Pampa biome, Southern Brazil. *Parasitology Research* 11: 1–9
- Mascarenhas CS, Silva RZ, Müller G (2021) (b)** Helminth's assemblage of *Trachemys dorbignii* (Testudines: Emydidae) in Southern Brazil: implications of anthropogenic environments and host's genders. *Iheringia, Série Zoologia* 111: e2021011

- Masi-Pallarés R, Benitez-Usher CA, Maciel S (1976)** Lista de dos helmintos del Paraguay. *Revista Paraguaya de Microbiología* 8: 67–112
- Mayr E (1942)** *Systematics and the Origin of Species*. Columbia Univ. Press, New York
- Mayr E (1996)** What Is a Species, and What Is Not? *Philosophy of Science* 63: 262–277
- Molina FB, Borges da Rocha M, Beserra de Mello Lula (1998)** Comportamento alimentar e dieta de *Phrynops hilarii* (Duméril & Bibron) em cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae). *Revista Brasileira de Zoologia* 15: 73–79
- Morand S, Krasnov BR, Poulin R, Degen AA (2006)** *Who is who and how they interact?* En: *Micromammals and Macroparasites*. Morand S, Krasnov BR, Poulin R. Springer, New York
- Moravec F (1998)** *Nematodes of freshwater fishes of the Neotropical region*. Academia, Praha
- Noriega JA, Santos AMC, Aranda SC, Calatayud J, et al. (2015)** ¿Cuál es el alcance de la crisis de la Taxonomía? Conflictos, retos y estrategias para la construcción de una taxonomía renovada. *Revista ide@* 9: 1–16
- Novelli IA, Morton GF, Trindade IT, Diego A, Silva N, Vieira FM (2014)** First occurrence of *Spirocamallanus* sp. (Nematoda, Camallanoidea) in a freshwater turtle, *Hydromedusa tectifera* (Cope, 1869) (Testudines, Chelidae), from Brazil. *Herpetology Notes* 7: 599–602
- Ostrowski de Núñez VM (1987)** The life history of *Acanthostomum brauni* Mañé-Garzón and Gil, 1961 (Trematoda, Acanthostomatidae). *Zoologischer Anzeiger* 218: 273–286
- Palomares-Rius JE, Cantalapiedra-Navarrete C, Archidona-Yuste A, Subbotin SA, Castillo P (2017)** The utility of mtDNA and rDNA for barcoding and phylogeny of plant-parasitic nematodes from Longidoridae (Nematoda, Enoplea). *Scientific reports* 7: 10905
- Palumbo EO, Capasso SC, Cassano MJ, Alcalde L, Diaz JI (2016)** *Spiroxys contortus* (Rudolphi, 1819) and *Hedruris orestiae* (Moniez, 1889) in Argentine turtles. *Checklist* 12: 1993
- Palumbo EO, Diaz JI (2018)** New species and new record of the genus *Cheloniodiplostomum* (Trematoda, Proterodiplostomidae, Polycotylineae), parasites of freshwater turtles from Argentina. *Parasitology Research* 117: 767–773
- Palumbo EO, Servián A, Sánchez R, Diaz JI (2020)** A new species of *Hedruris* (Nematoda: Hedruridae) from freshwater turtles, its life cycle and biogeographic distribution of the genus. *Journal of Helminthology* 94: e93

- Palumbo EO, Werneck MR, Diaz JI (2019)** Is *Amphiorchis* (Digenea: Spirorchiidae) an Exclusive Parasite of Sea Turtles? *Helminthologia* 6: 75–80
- Parker GA, Chubb JC, Ball MA, Roberts GN (2003)** Evolution of complex life cycles in helminth parasites. *Nature* 425: 480–484
- Pereira AMA, Brito SV, Araujo Filho JA, Teixeira AAM, Teles DA, Santana DO, Lima VF, Almeida WO (2018)** Diet and helminth parasites of freshwater turtles *Mesoclemmys tuberculata*, *Phrynops geoffroanus* (Pleurodira: Chelidae) and *Kinosternon scorpioides* (Cryptodira: Kinosternidae) in a semiarid region, Northeast of Brazil. *Acta Herpetologica* 13: 21–32
- Pérez Mata A, Aguirre A, Quijada Piñango J, Jesmil Lecuna Olivares J, Bethencourt Camacho A, Bautista N, Núñez O (2014)** Parasitic nematode infection in the South American Red-footed tortoise *Geochelone carbonaria* from Upata, Bolivar, Venezuela. *Neotropical Helminthology* 8: 251–257
- Petter AJ (1971)** Redescription d' *Hedruris androphora* Nitzsch, 1821 (Nematoda: Hedruridae) et étude de son développement chez l'hôte intermédiaire. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* 46: 479–495
- Pinheiro RHS, Melo FTV, Monks S, Santos JN, Giese EG (2018)** A new species of *Procamallanus* Baylis, 1923 (Nematoda, Camallanidae) from *Astronotusocellatus* (Agassiz, 1831) (Perciformes, Cichlidae) in Brazil. *ZooKeys* 790: 21
- Pinkas L (1971)** Food habits study. *Fish Bulletin* 152: 5–10
- Pinto HA, Melo AL, Brant SV (2015)** Where are the South American freshwater turtle blood flukes (Trematoda: Spirorchiidae)? The first morphological and molecular analysis of spirorchiid cercariae from freshwater snails in Brazil. *Parasitology International* 64: 553–558
- Postawa T, Nagy Z (2016)** Variation of parasitism patterns in bats during hibernation: the effect of host species, resources, health status, and hibernation period. *Parasitology Research* 155: 3767–3778
- Poulin R (2011)** *Evolutionary Ecology of Parasites*. Princeton university press, New Jersey
- Poulin R (2014)** Parasite biodiversity revisited: frontiers and constraints. *International Journal for Parasitology* 44: 581–589
- Poulin R, Morand S (2004)** *Parasite biodiversity*. Smithsonian Books, Washington

- Prado WS, Waller T, Albareda DA, Cabrera MR, Etchepare E, Giraud AR, Gonzales Carman V, Prosdocimi L, Richard E (2012)** Categorización del estado de conservación de las tortugas de la República Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 26: 375–387
- Pritchard MH, Kruse GO (1982)** *The collection and preservation of animal parasites*. University of Nebraska Press, Nebraska
- Queiroz K (2005)** Ernst Mayr and the modern concept of species. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 6600–6607
- Queiroz K (2007)** Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biologist* 56: 879–886
- Rausch R (1954)** Study Studies on the helminth fauna of Alaska. XXI. Taxonomy, morphological variation, and ecology of *Diphyllobothrium ursi* n. sp. provis. on Kodiak Island. *Journal of Parasitology* 40: 540–563
- Rausch R (1961)** Notes on the black bear, *Ursus americanus* Pallas, in Alaska, with particular reference to dentition and growth. *Zeitschrift fuer Saeugetierkunde* 26: 65–128
- Rhodin AGJ et al. (2017)** *Turtles of the world*. Chelonian Research Foundation and Turtle Conservancy, New York
- Rhodin AGJ et al. (2018)** Global conservation status of turtles and tortoise (Order Testudines). *Chelonian Conservation and Biology* 17: 135–161
- Richard E (1999)** *Tortugas de las regiones aridas de Argentina*. L.O.L.A., Buenos Aires
- Ritchie LS (1948)** An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bulletin of the United States Army Medical Department* 8: 326
- Rodriguez Capítulo A, Tangorra M, Ocón C (2001)** Use of benthic macroinvertebrates to assess the biological status of Pampean streams in Argentina. *Aquatic Ecology* 35: 109–119
- Rodriguez JFM, Soares DO, Silva JRF (2014)** Sexing freshwater turtles: penile eversion in *Phrynops tuberosus* (Testudines: Chelidae). *Acta Herpetologica* 9: 259–263
- Rodriguez JFM, Rizzo Friol N, Silva WC, Demondes E, Millas Pinto A, Fernandes-Ferreira H (2019)** Opening a turtle graveyard: Size distribution of dead individuals of *Phrynops geoffroanus* (Pleurodira, Chelidae). *Herpetozoa* 32: 33–37
- Roskov Y, Ower G, Orrell T, Nicolson D, Bailly N, Kirk PM, Bourgoin T, DeWalt RE, Decock W, Nieukerken E, Zarucchi J, Penev L (2019)** Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2019 Annual Checklist. www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019

- Rossin MA, Timi JM (2016)** A new species of *Hedruris* Nitzsch, 1821 (Nematoda: Hedruridae) parasitic in the freshwater fish *Oligosarcus jenynsii* (Gunther, 1864) (Characidae) from Argentina. *Systematic Parasitology* 93: 899–904
- Rush WM (1932)** *Diphyllobothrium latum* in bear. *Journal of Mammalogy* 13: 274–275
- Sánchez R, Semeñiuk MB, Cassano MJ, Alcalde L, Leynaud GL, Moreno L (2019)** Review of chelid and Emydid turtle distributions in southern South America with emphasis on extralimital populations and new records for Argentina. *Herpetological Journal* 29: 219–229
- Sánchez R, Semeñiuk MB, Cassano MJ, Alcalde L (2021)** Diet variation of the South American snake-necked turtle (*Hydromedusa tectifera*) from two different urban neighboring streams. *North-Western Journal of Zoology* 17: 212–219
- Santana DO, Iwama RE, Teixeira AAM, Moura GJB, Faria RG, Mesquita DO (2019)** Spatio-temporal variation and the use of host body surface by ectoparasites of the chelonians *Phrynops geoffroanus* and *Mesoclemmys tuberculata* in areas of the Caatinga and Atlantic Forest in northeast Brazil. *Parasitology Research* 118: 913–926
- Schaible UE, Kaufmann SHE (2007)** Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Medicine* 4: 806–812
- Schweitzer CE (2008)** Paleontological systematics in the 21st century: We need more specialists and more data. *Paleontologia Electronica* 11: 4e
- Semeñiuk MB, Alcalde L (2017)** Seasonal activity and basking of the Southernmost population of the freshwater turtle *Phrynops hilarii* (Chelidae). *Amphibia-Reptilia* 38: 125–132
- Semeñiuk MB, Sánchez RM, Cassano MJ, Palumbo EO, Alcalde L (2019)** Abundance and population structure of *Hydromedusa tectifera* Cope, 1869 in a highly anthropogenic environment in Argentina. *Chelonian Conservation and Biology* 18: 24–31
- Silva LAF (2014)** *Helmintofauna associada a répteis provenientes da Reserva Particular do Patrimônio Natural Foz do Rio Aguapeí, Estado de São Paulo*. Universidade Estadual Paulista, São Paulo
- Solis M, Mugni H, Hunt L, Marrochi N, Fanelli S, Bonetto C (2016)** Land use effect on invertebrate assemblages in Pampasic streams (Buenos Aires, Argentina). *Environmental Monitoring Assessment* 188: 539
- Souza FL, Abe AS (2000)** Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. *Journal of Zoology* 252: 437–446

- Spier EF, Favretto MA, Piovezan JC, Onghero Junior O, Ammar D (2014)** Registro de *Phrynosops williamsi* (Rhodin & Mittermeier, 1983) no rio do Peixe, centro-oeste de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 12: 56–57
- Sprehn LVC (1932)** Über einige von Dr. Eisentraut in Bolivien gesammelte Nematoden. *Zoologischer Anzeiger* 11/12: 273–284
- Snyder SD, Tkach VV (2001)** Phylogenetic and biogeographical relationships among some holarctic frog lung flukes (Digenea: Haematoloechidae). *Journal of Parasitology* 87: 1433–1440
- Thatcher VE (1963)** Trematodes of turtles from Tabasco, Mexico, with a description of a new species of *Dadaytrema* (Trematoda: Paramphistomidae). *The American Midland Naturalist* 70: 347–355
- Thatcher VE (1964)** Estudio sobre los trematodos de reptiles de Tabasco, Mexico: lista de huéspedes y sus parasites. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas* 13: 91–96
- Timi J, Lanfranchi AL, Etchegoin JA (2009)** Seasonal stability and spatial variability of parasites in Brazilian sandperch *Pinguipes brasilianus* from the Northern Argentine Sea: evidence for stock discrimination. *Journal of Fish Biology* 74: 1206–1225
- Viena DC, Rodrigues JFM, Madelaire CB, Santos ACG, Souza AL (2016)** Nematoda of *Kinosternon scorpioides* (Testudines: Kinosternidae) from Northeastern Brazil. *Journal of Parasitology* 102: 165–166
- Vieira FM, Novelli IA, Souza BM, Souza Lima S (2008)** A new species of *Polystomoides* Ward, 1917 (Monogenea: Polystomatidae) from freshwater chelonians (Testudines: Chelidae) in Brazil. *Journal of Parasitology* 94: 626–630
- Vieira FM, Oliveira PR, Gonçalves GS, Souza AL, Souza Lima S, Novelli IA (2016)** *Phrynosops geoffroanus* (Geoffroy's Side necked turtle). Endoparasite. *Herpetological Review* 47: 655–655
- Villaseñor JL (2015)** ¿La crisis de la biodiversidad es la crisis de la taxonomía? *Botanical Sciences* 93: 1–12
- Vinke T, Vinke S (2016)** *Acanthochelys pallidipectoris*. *The IUCN Red List of Threatened Species* e. T75A3139283
- Vinke T, Vinke S, Kohler G (2013)** What is known about *Mesoclemmys vanderhaegei* (Bour, 1973): a systematic review of the available literature. *Paraquaria Natural* 1: 21–31

- Watertor JL (1967)** Intraspecific Variation of Adult *Telorchis bonnerensis* (Trematoda: Telorchidae) in Amphibian and Reptilian Hosts. *Journal of Parasitology* 53: 962-968
- Wood CL, Johnson PT (2015)** A world without parasites: exploring the hidden ecology of infection. *Frontiers on Ecology and the Environment* 13: 425-434
- Yamaguti S (1961)** *Systema Helminthum Vol. III: The Nematodes of Vertebrates*. Interscience Publishers, New York & London
- Yanosky AA, Dixon JR, Mercolli C, Williams J (2000)** Note on two specimens of *Phrynos vanderhaegei* Bour, 1973 (Testudines: Chelidae) from Formosa (Northeastern Argentina). *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 36: 61-64
- Yeh LS (1960)** On a Reconstruction of the genus *Camallanus* Railliet and Henry, 1915. *Journal of Helminthology* 34: 117-124
- Yooyangket T, Muangpat P, Polseela R, Tandhavanant S, Thanwisai, Vitta A (2018)** Identification of entomopathogenic nematodes and symbiotic bacteria from Nam Nao National Park in Thailand and larvicidal activity of symbiotic bacteria against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *PloS one* 13: e0195681



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

Parasitofauna en tortugas dulceacuícolas de Argentina:
La relación parásito-hospedador-ambiente

Ezequiel O. Palumbo

Trabajo de tesis para optar por el título de
Doctor en Ciencias Naturales

DIRECTORES

Julia Inés Díaz
Leandro Alcalde

2022