

Tesis Doctoral

Evaluación de la dinámica de salud en poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766 (RODENTIA: Caviidae): intensidad del parasitismo gastrointestinal

Eberhardt, María Ayelén Teresita

2014-06-30

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Eberhardt, María Ayelén Teresita. (2014-06-30). Evaluación de la dinámica de salud en poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766 (RODENTIA: Caviidae): intensidad del parasitismo gastrointestinal. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Eberhardt, María Ayelén Teresita. "Evaluación de la dinámica de salud en poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766 (RODENTIA: Caviidae): intensidad del parasitismo gastrointestinal". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2014-06-30.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Evaluación de la dinámica de salud en poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766
(RODENTIA: Caviidae): intensidad del parasitismo gastrointestinal**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en
el área Ciencias Biológicas

Lic. María Ayelen Teresita Eberhardt

Directores de tesis: Dr. Rubén Darío Quintana
Dr. Pablo Martín Beldomenico

Consejero de Estudios: Dr. Rubén Darío Quintana

Lugar de trabajo: Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET)

Buenos Aires, 2014.

Fecha de defensa: 30 de junio de 2014

Evaluación de la dinámica de salud en poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766 (RODENTIA: Caviidae): Intensidad del parasitismo gastrointestinal

Resumen

Con la premisa que los helmintos son causa y consecuencia de la condición de salud de sus hospedadores, este trabajo tuvo como objetivos: i. Evaluar el uso de la intensidad de los parásitos gastrointestinales específicos como herramienta para el estudio de la salud poblacional en carpinchos ii. Relacionar cargas parasitarias con factores ambientales, demográficos e interacciones interespecíficas de parásitos co-infectantes, iii. Evaluar la relación de la intensidad del parasitismo de determinados helmintos y/o protozoarios específicos con el estrés y el estado inmuno-fisiológico del carpincho. Se recolectaron 1600 heces frescas en la ecoregión “LLagunas y Esteros del Iberá”, Corrientes, desde septiembre 2010 hasta febrero de 2013. Se realizaron 72 necropsias de ejemplares de carpinchos silvestres, y se realizó un experimento con 30 carpinchos de cautiverio. A partir de los análisis coproparasitológico de las heces y los parásitos adultos, se identificaron y contabilizaron los nematodos: *Vianella hydrochoeri*, *Hydrocherisnema anomalobursata*, *Trichostrongylus* cf. *axei*, *Strongyloides* cf. *chapini*, *Echinocoleus hydrochoeri*, *Trichuris* sp. y *Protozoophaga obesa*; cestodos del género *Monoecocestus* sp.; trematodos de las especies *Taxorchis cabrali*, *T. schistocotyle* e *Hippocrepis hippocrepis* y ooquistes de especies del género *Eimeria* spp. Según los resultados obtenidos, los conteos de las formas evolutivas en materia fecal son indicativos en niveles aceptables de la carga parasitaria interna para la superfamilia Trichostrongyloidea, *S. chapini* y *Trichuris* sp. En general, no se evidenció estacionalidad marcada para ningún taxón de parásito encontrado en las heces debido a que existió una interacción entre las estaciones y el año de muestreo. Además la abundancia de las distintas especies parasitarias estuvo asociada (positiva o negativamente dependiendo del parásito) a factores ambientales (precipitaciones y temperaturas) y a las densidades del hospedador. La interacción entre nematodos (Viannaiidae) y *Eimeria* spp. dependió de factores ambientales y del hospedador. La relación fue positiva en algunas circunstancias (dependió de la temporada, año, sexo o tamaño de los animales), y antagónica bajo diferentes escenarios. Estas interacciones antagonistas no siguieron un patrón estacional en particular y se encontraron predominantemente en el sexo femenino (cuando dependieron del sexo) o en 2010 y 2011 (cuando dependieron del año de muestreo). Los carpinchos estresados del experimento, tuvieron significativamente mayores intensidades de infección de coccidios, pero los individuos de menor tamaño, consistentemente mostraron bajas cargas de helmintos comparado con los controles. El estrés tuvo un marcado impacto negativo sobre el crecimiento y la condición corporal, pero un efecto positivo significativo en algunos de los componentes del sistema inmune. Nuestros resultados sugieren que: i. durante los períodos prolongados de estrés los carpinchos preventivamente invierten energía en algunos componentes de su sistema inmunológico, lo que podría considerarse una profilaxis dependiente del estrés, ii. se encontró que el estrés provoca una mayor intensidad de infección de protozoos, pero cargas más bajas de nematodos, lo que indica que la relación entre el estrés, las regulaciones fisiológicas y la infección depende del tipo de parásito en cuestión. Se propone que la inversión inmune contexto-dependiente documentada en este experimento con carpinchos podría ser la causa de las diversas interacciones intra e interespecíficas documentadas para los parásitos de los carpinchos silvestres.

Palabras claves: carpincho, *Hydrochoerus hydrochaeris*; dinámicas de salud, parásitos gastrointestinales; estrés, parámetros inmuno-fisiológicos; interacciones inter-específicas.

Assessment of the dynamics of health in population of *Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766 (RODENTIA: Hydrochaeridae): Intensity of gastrointestinal parasitism

Summary

Helminths are cause and consequence of the health of their host condition, so the overall objectives of this study were: i. Evaluate the use of intensity of specific gastrointestinal parasites as a tool to assess the population health in capybaras; ii. Establish link between parasites loads and environmental factors, demography of the host and interspecific interactions of parasite co-infection; iii. Evaluate the impact of food restriction and physical restraint on the infection intensity of specific gastrointestinal nematodes and coccidia, and how these stressors affected the growth, body condition, and some immuno-physiological parameters. 1600 feces were collected from September 2010 to February 2013 from a population of capybaras from Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina. 72 necropsy of wild capybaras were performed and an experiment with 30 female captive capybara was carried out. There were identified and counted nematodes: *Vianella hydrochoeri*, *Hydrocherisnema anomalobursata*, *Trichostrongylus* cf. *axei*, *Strongyloides* cf. *chapini*, *Echinocoleus hydrochoeri*, *Trichuris* sp. and *Protozoophaga obesa*; cestodes of gen *Monoecocestus* sp.; trematodes: *Taxorchis cabrali*, *T. schistocotyle* and *Hippocrepis hippocrepis* and oocytes of species of *Eimeria* spp. According to results, counts of fecal evolutionary forms are indicative at acceptable levels of internal parasite burdens of Trichostrongyloidea, *S. chapini* and *Trichuris* sp. In general, no seasonality was evident for any taxon of parasite found in feces due to an interaction existed between seasons and years of sampling. Besides the abundance of different parasite species was associated (positively or negatively depending on the parasite) with environmental factors (rainfall and temperature) and densities of the host. The interaction between nematodes (Viannaiidae) and *Eimeria* spp. depended on environmental and host factors. The relationship was positive in some circumstances (depending on season, year, sex, or animal size), but it appeared to become antagonistic under different scenarios. These antagonist interactions did not follow a particular seasonal pattern, but they were predominantly found in females (when they depended on sex) or in 2010 and 2011 (when they depended on the sampling year). These results suggest that the relationship between coccidia and nematodes in capybaras may be context dependent. Stressed capybaras had significantly higher coccidia infection intensities; but among individuals that were smaller, those stressed consistently showed lower helminth burdens than controls. Both stress treatments had a marked negative impact on growth and body condition, but they had a significant positive effect on some components of the immune system. Our results suggest, on the one hand, that during prolonged periods of stress capybaras preventatively invest in some components of their immunity, which could be considered a stress-dependent prophylaxis. On the other hand, stress was found to cause greater infection intensities of protozoans but lower burdens of nematodes, indicating that the relationship between stress, physiological trade-offs and infection depends on the type of parasite in question. We propose that the context-dependent immune investment documented in capybaras may be the cause of these varying interactions.

Keywords: Capybara; *Hydrochoerus hydrochaeris*; dynamics of health; gastrointestinal parasites; stress, immune-physiological parameters; inter-specific interactions.

Agradecimientos

A Fede, por el amor, la comprensión y el apoyo incondicional durante todo este camino...

A Mora y Sara, mis soles, por acompañarme desde que nacieron, y antes también, en esta etapa y por el amor que me dan todos los días.

A toda mi familia, mamá, papá, Pablo, Ale, Manu y Edu "Nenu", Abu, mis cuñadas Vero, Romi y Ceci, y mi ahijada Magui, por confiar en mí, por ayudarme en todos los momentos y compartir conmigo este proyecto.

A mis directores Pablo y Rubén por brindarme su apoyo y su experiencia y por confiar en mí la realización de este tesis. Y muy especialmente a Pablo por compartir conmigo sus conocimientos, su amistad y ser mi modelo a seguir..."sólo en la investigación".

Al Dani amigo y compañero de trabajo, por su apoyo incondicional y su tiempo brindado en cada campaña y en el laboratorio...y sus cervecitas...

A Pablo M. y Darío, mis amigos del "lab", por emprender este camino juntos, ayudarme a crecer en esta profesión y compartir conmigo sus sabidurías

A los chicos del LECEN, Andrea, Andre P., Vale, Lucas y Tato por estar siempre acompañando y aportando sus conocimientos y alegrías

A mis amigos de la "facu" Fede, Noe, Mari, Flo, Lu por entenderme, acompañarme y compartir conmigo tantos buenos momentos.

A Marilú, por compartir conmigo su amistad, su experiencia, su pasión por la investigación y sobretodo su alegría de vivir

A todo el grupo capibara...especialmente a Eve, Nico, Nanu, Mateo, Caro, Juan Pablo, Sole, Seba....este trabajo no hubiese podido realizarse sin su invalorable ayuda y tiempo...

A la cátedra de parasitología: Guido, Florencia, Dana, Anita, Vivi, Marce...por su tiempo, experiencia y su espacio. A Rosario Robles por su tiempo, conocimiento y buena onda que siempre nos transmitió.

A Seba C. y Dani L., compañeros y amigos, por su invalorable ayuda y tiempo dedicado a mi tesis

A Vale por dejarme ser parte de su proyecto y compartir tantas campañas juntas

A Seba, Yamil y Karina por todo el apoyo brindado durante las "tantas" campañas a Corriente realizadas y a todo el personal de CLT que nos ayudó.

A Pedro y a "Chacho" y Mercedes, por recibirnos en sus respectivos lugares y hacer más amena nuestras estadías en Corrientes.

Al CONICET por darme la posibilidad de poder hacer lo que me gusta...Al ICIVET y FCV-UNL por brindarme las instalaciones, lo que permitió realizar este trabajo de Tesis Doctoral y a los organismos que financiaron los proyectos de investigación del cual forma parte el trabajo realizado en esta Tesis: Universidad Nacional del Litoral, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Secretaría de Estado de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Provincia de Santa Fe y a la Secretaría de Ambiente y desarrollo Sustentable de la Nación.

A todos....GRACIAS...GRACIAS.....GRACIAS.... **GRACIAS!!!!**

A mis tres amores Mora, Sara y Federico, que son mis alegrías, mis ganas y mi motor todos los días...

Y por supuesto a mis papás, Cristina y Eduardo, que gracias a ellos soy lo que soy...

ÍNDICE

Resumen.....	2
Summary.....	3
Agradecimientos.....	4
Dedicatoria.....	5
ÍNDICE.....	6
Capítulo 1: “Introducción General”	9
Introducción General.....	10
Hipótesis.....	16
Objetivo General.....	16
Objetivos Específicos.....	17
Breve descripción de los estudios realizados.....	17
Estudio experimental con carpinchos en cautiverio.....	17
Estudio observacional longitudinal.....	17
Estudio observacional transversal.....	18
Bibliografía.....	19
Capítulo 2: “Descripción de parásitos y dinámicas parasitarias”	24
Introducción General	25
Parte 1. Los parásitos	26
Introducción.....	26
La comunidad parasitaria del carpincho.....	26
Objetivos.....	26
Materiales y métodos.....	27
Caracterización del área de estudio.....	27
Muestras de materia fecal.....	28
Fecas del experimento.....	28
Fecas del campo.....	28
Análisis de materia fecal.....	29
Obtención y determinación de los parásitos gastrointestinales.....	30
Análisis Estadísticos.....	31
Resultados.....	31
Descripción morfológica de las formas evolutivas.....	31
Descripción morfológica de parásitos adultos.....	36

Relación entre hpg y carga parasitaria interna	38
Discusión.....	39
Conclusión.....	43
Parte 2. Dinámicas parasitarias de poblaciones silvestres de carpinchos.....	44
Asociaciones inter-específicas parasitarias.....	45
Objetivos.....	48
Materiales y Métodos.....	48
Resultados.....	53
Discusión.....	74
Bibliografía.....	74
Capítulo 3: “Interacciones parásitos-hospedador”.....	80
Parte 1. “Parámetros biométricos y fisiológicos del carpincho. Estudio descriptivo”	81
Introducción.....	81
Objetivos Específicos.....	83
Materiales y Métodos.....	83
Animales y Área de estudio.....	83
Descripción morfológica, medidas de crecimiento y condición corporal de los carpinchos.....	83
Necropsias y toma de muestras.....	84
Medición del sistema inmune y otros parámetros fisiológicos.....	84
Recuento total de células sanguíneas.....	84
Determinación de proteínas totales y albúmina sérica.....	85
Índice de masa esplénica y anticuerpos naturales.....	85
Análisis estadísticos.....	85
Resultados.....	86
Descripción morfológica y medidas de condición corporal de los carpinchos.....	86
<i>Condición corporal.....</i>	<i>87</i>
<i>Células sanguíneas.....</i>	<i>87</i>
<i>Proteínas totales y fracciones proteicas.....</i>	<i>92</i>
<i>Masa del bazo y Anticuerpos Naturales.....</i>	<i>93</i>
Discusión.....	93
Conclusión.....	99
Bibliografía.....	100
Parte 2. Asociaciones entre carga parasitaria, condición y estado inmunitario de carpinchos silvestres.....	105

Introducción.....	105
Objetivos.....	105
Materiales y Métodos.....	105
Resultados.....	107
Discusión.....	108
Bibliografía.....	112
Capítulo 4: “Parasitismo y sistema inmune de los carpinchos: respuestas al estrés”	115
Introducción.....	116
Materiales y Métodos.....	117
Resultados.....	124
Discusión.....	134
<i>Estrés, aumento de la masa corporal y condición corporal</i>	134
<i>Estrés e inversión inmunológica: profilaxis inducida por el estrés</i>	134
<i>Estrés e intensidad parasitaria</i>	137
Conclusiones.....	139
Bibliografía.....	140
Conclusiones Generales.....	146

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN GENERAL



INTRODUCCIÓN GENERAL

Los parásitos y su rol en las dinámicas de sus hospedadores

Luego de varias décadas de ser ignorados, los parásitos¹ han sido reconocidos como un factor que juega un papel importante en la dinámica poblacional de animales silvestres (Grenfell 1995; Hudson *et al.* 1998; Tompkins and Begon 1999, Pedersen & Greives 2008). Al acaparar recursos de sus hospederos e inducir en éstos una respuesta inmune nutricionalmente demandante, aún patógenos endémicos relativamente benignos pueden ser capaces de ejercer un efecto negativo en la reproducción y/o la supervivencia, tal como ha sido demostrado para el virus cowpox en su especie hospedera reservorio (el roedor *Microtus agrestis*) (Burthe *et al.* 2008).

Varios estudios empíricos, tanto experimentales como observacionales, sugieren que los parásitos, al afectar tanto la condición corporal como la reproducción y/o fecundidad de las hembras y la supervivencia de sus hospedadores, contribuirían a la inestabilidad poblacional de vertebrados silvestres (Ives and Murray 1997; Murray *et al.* 1997; Stien *et al.* 2002; Newey *et al.* 2004; Newey *et al.* 2005). Además se ha demostrado en especies que poseen ciclos multianuales, que la interacción parásito - hospedador contribuye a explicar los ciclos poblacionales de esas especies. Gulland (1992), por ejemplo, demostró en un estudio experimental durante períodos de colapso poblacional de ovejas Soay (*Ovis aries*) asilvestradas, que los animales tratados con antihelmínticos tuvieron mayor supervivencia que los controles. Por otra parte, Hudson *et al.* (1998) y luego Radpath *et al.* (2006) comprobaron mediante experimentos a largo plazo y de gran escala, la capacidad de parásitos intestinales de provocar fluctuaciones cíclicas en la abundancia de poblaciones de lagópodos escoceses (*Lagopus lagopus scoticus*) en el norte del Reino Unido.

Sin embargo, los ciclos demográficos que periódicamente presentan las poblaciones silvestres son extremadamente complejos y no pueden ser explicados teniendo en cuenta variables aisladas (MacLeod *et al.* 2010). Por ejemplo, es posible que el parasitismo y el estado nutricional de los hospedadores interactúen frecuentemente para determinar la abundancia de las poblaciones silvestres. Los parásitos infringen muchas veces costos energéticos sustanciales, lo cual repercute en la supervivencia, fecundidad y patrones de comportamiento de los hospederos. Del mismo modo, en ambientes con amplias ofertas de nutrientes donde los individuos cuentan con buenas reservas energéticas, es posible que los parásitos no produzcan importantes efectos en sus hospedadores. Pedersen y Greives (2008) condujeron un experimento en poblaciones de *Peromyscus* y demostraron que tanto la suplementación con alimento como la administración de anti-helmínticos disminuyeron la magnitud de las declinaciones poblacionales cíclicas, pero ambos tratamientos combinados tuvieron un efecto sinérgico, logrando prevenir completamente los colapsos demográficos, lo que da cuenta de la interacción entre los parásitos y la condición general de los hospedadores. El stress nutricional, por su parte, podría exacerbar tanto la intensidad como las consecuencias clínicas de la infección parasitaria a través de la inmunosupresión (Holmes 1995; Chapman *et al.* 2006).

Evidentemente las dinámicas de infección pueden depender de la vulnerabilidad del hospedero, ya que una condición deteriorada es factible que predisponga a los individuos a enfermedades infecciosas y parasitarias (Beldomenico *et al.* 2008a), debido a que los hospedadores en peores

¹ En esta tesis los términos "parásito" y "patógeno" se utilizan indistintamente.

condiciones estarían menos preparados para ofrecer una resistencia y/o tolerancia eficiente a los parásitos. Estas nociones resultan en un claro potencial para el sinergismo entre infección y condición: una condición empobrecida predispone a infecciones, las que a su vez empeoran aún más la condición y así sucesivamente, actuando ambos estados como causa y consecuencia del otro. Un estudio longitudinal en poblaciones de ratones de campo (*Microtus agrestis*) proveyó datos que avalan esta teoría (Beldomenico *et al.* 2008a). Los autores encontraron que individuos con bajos recuentos de eritrocitos y linfocitos (indicadores de condición) tuvieron mayores probabilidades de desarrollar monocitosis y neutrofilia (indicadores de infección), y que altos niveles de monocitos y neutrófilos fueron seguidos por una declinación de los indicadores de condición. El estudio de Pedersen y Grieves (2008) mencionado anteriormente, también suma evidencia de la interacción sinérgica entre la condición de los hospedadores y sus parásitos.

Esto sugiere que mediante la generación de círculos viciosos, la comunidad parasitaria puede ser más importante para la dinámica de las poblaciones de fauna que lo que se ha apreciado hasta el presente (Blanchet 2009; Beldomenico y Begon 2010). Asimismo, situaciones que puedan causar un empobrecimiento de la condición de gran proporción de los individuos de una población (ej. estrés por destrucción de hábitat, contaminación, cambio climático, presión de caza, etc.), tendrían la capacidad potencial de inducir a la población a sufrir una mayor carga parasitaria que a través de los círculos viciosos mencionados, terminarían produciendo la declinación poblacional del hospedador.

Las enfermedades por lo tanto, pueden causar declinaciones drásticas de las poblaciones silvestres, e incluso extinciones locales de especies clave, especies ingenieras del ecosistema y otras especies de importancia incalculable para el medio. En los últimos tiempos, la abundancia de muchas especies silvestres se redujo radicalmente debido a efectos antrópicos, lo cual representa una situación ideal para la intensificación de los efectos provocados por las enfermedades. En escalas locales, la interacción sinérgica de las enfermedades y los factores estresantes antropogénicos podría actuar removiendo completamente poblaciones de animales silvestres (Smith 2009). Por ejemplo se han registrado extinciones locales de anfibios debido a la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis*, como es el caso de la rana harlequín (*Atelopus* spp.) en Centroamérica (La Marca *et al.* 2005). Estudios recientes han sugerido que la declinación mundial de anfibios asociados con brotes de este patógeno está ligada al calentamiento global (Pounds *et al.* 2006). Por un lado los cambios favorecen el desarrollo de las condiciones óptimas para la expansión del hongo y por el otro, el calentamiento global produce un deterioro de la condición de los anfibios, haciéndolos más susceptibles a la infección, lo cual produce un aumento en la mortalidad y en consecuencia a una declinación poblacional (Reading 2007).

De lo expuesto se deduce que la evaluación de la condición de salud de individuos silvestres es imprescindible para lograr comprender las situaciones adversas a las que se enfrentan las poblaciones de fauna. Por otro lado, la evaluación de las dinámicas de salud en poblaciones naturales ha demostrado contribuir en gran medida a la dilucidación de la historia natural de las especies (Beldomenico *et al.* 2008b).

Suzán Azpiri *et al.* (2000) remarcan la importancia del estudio de los parásitos y el conocimiento del perfil epidemiológico de las poblaciones sometidas a manejo como punto fundamental para todo programa de manejo de especies ya sea como recurso renovable o para la conservación de especies

amenazadas. Sin embargo, a pesar de la importancia ecológica que tienen las enfermedades, hasta ahora han sido pocos los programas de manejo que han tomado en cuenta su estudio de manera sistemática, lo que podría redundar en medidas de manejo inapropiadas.

El carpincho y su estado en la Argentina

El carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1976), es el mayor roedor vivo del mundo, y pertenece a la familia Caviidae, suborden Hystricomorpha (Moreira, 2013). Es un roedor anfibio cuyo peso adulto promedio, es de alrededor, de 55-60 kg. Es un animal sociable que conforma grupos familiares entre 5 y 14 individuos adultos, aunque pueden ser mayores de acuerdo al hábitat, estación del año y densidad poblacional (Ojasti, 2011; Manaiders Pinto, 2003; Quintana y Rabinovich, 1993). Usualmente estos grupos sociales incluyen un macho dominante, uno o dos subordinados y varias hembras que generalmente están emparentadas. Su rango de vida es de 6-7 a 14 años (Herrera & Macdonald DW 1984; Moreira *et al.* 2013). Tanto las hembras como los machos son considerados sexualmente maduros entre el 1 1/2 y los 2 años de vida cuando su masa corporal se encuentra entre los 30-40 kg. (Ojasti 2011; Moreira *et al.* 2013). Los carpinchos difieren de los demás roedores en diversas características reproductivas, empezando con su condición al nacer. Los carpinchos una vez nacidos son precociales, es decir nacen con los ojos abiertos, cubiertos de pelos y son capaces de moverse dentro de las primeras horas y comer comida sólida dentro de los primeros días de nacidos (Ojasti 2011; Moreira *et al.* 2013). Además nacen con un tamaño grande, 1.5-2 kg (Ojasti 2011; Moreira *et al.* 2013). Los carpinchos a diferencia de los demás histricomorfos, poseen una relación positiva entre tamaño de camada y masa corporal. Ellos poseen el mayor número promedio de crías (4.2; rango=1-8) y la mayor masa corporal, 52 kg (Moreira y Macdonald 1997). Los carpinchos también tiene el período de gestación más largo entre los roedores, 150.6 +/- 2.8 días. Se reproducen durante todo el año y no hay una estación reproductiva específica. Sin embargo, la frecuencia de apareamiento suele ser más intensa al comienzo de la estación húmeda (abril-mayo en Venezuela, Octubre-noviembre en Pantanal, Brasil; Mones and Ojasti 1986), por lo que, el pico de nacimientos es al final de dicha estación en ambos sitios. No obstante, este patrón no se ha observado a lo largo de toda la distribución que posee esta especie. Por ejemplo, la población de carpinchos de la isla Marajó en Brasil, muestra un pico de nacimientos al comienzo de la estación lluviosa. Además en regiones donde no hay una estacionalidad marcada, como en la Mata Atlántica en la costa del estado de Bahía, Brasil, y la disponibilidad de recursos a lo largo de todo el año es relativamente constante, los carpinchos poseen dos picos de nacimientos (Moreira *et al.* 2013).

Además de ser social y formar grupos estables, el carpincho es una especie sedentaria cuyo rango de acción varía entre 5 y 16 hectáreas y por lo general incluye un gran área con vegetación para forrajeo un cuerpo de agua permanente y un área seca y de vegetación alta para refugio y descanso (Moreira *et al.* 2013). Este roedor ocupa una gran variedad de hábitats a lo largo de toda su distribución, desde Panamá hasta el sur de la provincia de Buenos Aires en la Argentina (Figura 1). Debido a los requerimientos de la especie (disponibilidad de ambientes acuáticos, áreas de forrajeo y áreas para refugio y descanso), en la Argentina se encuentra en la mayor parte de los humedales fluviales, particularmente de la Cuenca del Plata, a lo largo de los grandes ríos Paraná, Uruguay, Paraguay, Pilcomayo y Bermejo, aunque también puede encontrarse en otros sistemas hídricos como por ejemplo en la Laguna Mar Chiquita, Provincia de Córdoba (Quintana y Bolkovic 2013). En nuestro país se encuentra presente en las provincias de Salta, Jujuy, Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes,



Figura 1. Mapa de la distribución actual del género *Hydrochoerus*. Área gris: *Hydrochoerus hydrochaeris*. Área rallada: *H. isthminus*. (Extraído de Moreira *et al.* 2013)

Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Córdoba y Buenos Aires (Alvarez & Martínez 2006).

En Argentina, el carpincho esta especie es particularmente importante por su valor social y económico, ya que representa una de las especies de fauna más utilizadas en el país y constituye una fuente adicional de proteínas así como un ingreso económico de importancia para muchas comunidades locales (Quintana *et al.*, 1992, Arena 2003; Bolkovic *et al.* 2006; González 2001 en Bolkovic y Ramadori 2006). A pesar de ello, no existe en la actualidad un plan de manejo de la especie organizado y recién en los últimos años se ha comenzado a intentar gestionar este recurso en el marco de un proyecto a escala nacional (Bolkovic *et al.* 2006). Por otra parte, los altos rendimientos alcanzados en la producción de granos llevaron a una expansión significativa de la frontera agrícola y al reemplazo de pasturas por cultivos, lo que desplazó la actividad ganadera hacia sitios marginales, incluyendo los humedales, afectando de esta manera los bienes y servicios que estos ecosistemas brindan al hombre (Kandus, Quintana y Bó 2006). En particular, los grandes humedales fluviales de la región del Delta del Paraná han sido escenario de un incremento notable de la carga ganadera (Belloso 2007), lo que representa una importante presión sobre las poblaciones de fauna silvestre. En particular, se ha observado que los carpinchos cambian sus patrones forrajeros cuando comparten su hábitat con especies de herbívoros domésticos (Quintana *et al.* 2002) y estos cambios en dichos patrones podrían a su vez influir sobre su estado sanitario. Además, en los humedales, no sólo ha aumentado la carga ganadera, sino que también grandes extensiones han sido y siguen siendo, drenados para la agricultura o son reemplazados por cultivos de arroz o forestaciones de pinos. A nivel nacional estas perturbaciones, en conjunto con la minería, urbanización, caza furtiva y caza

deportiva han provocado una crisis generalizada de la biodiversidad, debido en gran parte a la pérdida de hábitat para muchas especies de fauna silvestre (Quintana y Bolkovic 2013). Si bien, el carpincho es todavía relativamente abundante en algunas provincias, como por ejemplo Corrientes, es claro que algunas poblaciones de la especie han declinado drásticamente en la últimas décadas o incluso han desaparecido cerca de zonas urbanizadas, especialmente donde han aumentado la demanda de su cuero y carne (Quintana y Bolkovic 2013).

Dinámicas de salud de poblaciones silvestres

Las dinámicas poblacionales de vertebrados silvestres son reflejo de sus dinámicas de salud, la cual a su vez depende de la existencia de un equilibrio en la interacción entre el sistema inmune del animal y su comunidad parasitaria (Redford *et al.* 2011). Por ende, para conservar y manejar nuestros recursos faunísticos es importante comprender las dinámicas de salud de sus poblaciones. Por lo tanto, resulta relevante describir la dinámica de salud de las especies como el carpincho, muy utilizadas como recurso renovable, para poder identificar momentos y situaciones en los que las poblaciones puedan resultar especialmente vulnerables. Los esfuerzos llevados adelante para intentar medir condición de salud en poblaciones silvestres han sido escasos. Se ha explorado la utilización de índices genéricos de salud rutinariamente empleados en medicina humana y veterinaria (Beldomenico *et al.* 2008b; Smits 2007; Wayland *et al.* 2003), sin embargo, en estos casos se han usado técnicas que involucran la captura de individuos, lo que conlleva un alto costo y un posible impacto negativo para las poblaciones estudiadas.

Comunidad parasitaria del carpincho

En estado silvestre, los carpinchos son hospederos de numerosos parásitos gastrointestinales, con los cuales conviven a diario, manteniendo un dinámico y delicado balance parásito-hospedador. Esta comunidad parasitaria incluye numerosos helmintos de ciclo directo y protozoos específicos de alta prevalencia y ubicuidad (Salas & Herrera 2004; Freyre *et al.* 1979; Sinkoc, Brum, & Muller 2009). Los nematodos reportados con mayor frecuencia en carpinchos son *Strongyloides chapini* Sandground (Rhabditoidea, Strongyloidea), *Hydrochoerisnema anomalobursata* Arantes & Artigas (Trichostrongyloidea, Viannaiidae), *Viannella hydrochoeri* Travassos (Trichostrongyloidea, Viannaiidae), *Trychostrongylus axei* Cobbold (Trichostrongyloidea, Trychostrongylidae) *Protozophaga obesa* Diesing (Oxyuroidea, Oxyuridae), *Trichuris sp.* Roederer (Trichinelloidea, Trichuridae) and *Echinocholeus hydrochoeri* Travassos (Trichinelloidea, Trichinellidae). Dentro de los protozoos, las especies más comunes de coccidios son *Eimeira hydrochoeri* Carini, *E. trinidadensis* Casas, Duszynski and Zalles, *E. ichiloensis* Casas, Duszynski and Zalles, *E. boliviensis* Casas, Duszynski and Zalles and *E. araside* Gurgel, Sartori and Araújo. Estudios de las dinámicas de poblaciones de carpinchos han demostrado efectos denso-dependientes sobre: masa corporal ganada, fecundidad, supervivencia de las crías y mortalidad de los adultos (Ojasti & Sosa Burgos 1985), pero la implicancia de los parásitos en esos efectos no se ha investigado. A pesar del gran número de parásitos gastrointestinales que se han encontrado en los carpinchos, no se han descripto asociaciones con patologías. Sin embargo Salas & Herrera (2004) hallaron una correlación negativa entre la condición corporal de carpinchos y la intensidad del parasitismo con *Viannella hydrochoeri* (Nematode Trychostrongylidae del intestino delgado) y *Monococestus macrobursatum* (Cestode Anoplocephalidae del intestino delgado). Corriale *et al.* (2013) estimaron que la baja condición de los

carpinchos silvestres estudiados podría estar relacionada a la alta carga parasitaria y a la densidad de carpinchos presentes en la zona de estudio.

Por todo lo expuesto anteriormente es que surge la necesidad de evaluar la utilización de métodos no invasivos y de bajo costo, para la descripción de las dinámicas de salud del carpincho. Se propone la utilización de estimadores de la carga de determinados parásitos de gran ubicuidad, especificidad y elevada prevalencia para valorar el estado de salud de los carpinchos. El sustento racional de esta aproximación radica en la hipótesis que individuos con una condición deteriorada sufrirán cargas parasitarias más elevadas (lo cual es causa y consecuencia de esa condición deteriorada), eliminando así mayor cantidad de determinadas formas evolutivas en las heces. Por lo tanto, midiendo cargas parasitarias podríamos monitorear dinámicas de salud de poblaciones de carpincho. El hecho que la carga parasitaria en algunos casos pueda ser medida en heces hace que este monitoreo pueda realizarse de una manera práctica y no invasiva.

Animales que enfrentan desafíos ambientales inmediatos, que son factores de estrés, tales como la depredación, la competencia y agresión intraespecífica, la escasez de alimentos, o condiciones de alta densidad, exhiben niveles elevados de glucocorticoides (Bartolomucci *et al.* 2001; Creel *et al.* 2002; Romero 2004). Los glucocorticoides son hormonas esteroides suprarrenales que juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis en vertebrados (Wingfield *et al.* 1997; Jacobs & Wingfield 2000; Wingfield & Sapolsky 2003; Goymann & Wingfield 2004). La secreción de los glucocorticoides está controlada por el eje Hipotalámico-Pituitaria-Adrenal (HPA) y es regulada por señales diurnas y activada por estrés (Sapolsky *et al.* 2002; Dallman, 2003). La actividad del eje HPA desencadenada por exposición a un estresor, gatilla principalmente la secreción de hormona liberadora de corticotropina (CRH), y en menor medida de arginina-vasopresina (AVP) por el núcleo paraventricular del hipotálamo (Boonstra, 2005). La CRH y AVP llegan por circulación portal a la hipófisis anterior, donde estimulan la liberación de hormona adrenocorticotropina (ACTH) a la circulación general. La ACTH es quien promueve el consumo de colesterol por la corteza de la glándula adrenal, y su conversión enzimática a cortisol y corticosterona para luego ser liberadas estas últimas al torrente sanguíneo (Matteri y col. 2000; Dallman 2003; Boonstra 2005). Los principales efectos de los glucocorticoides (GC) en estas condiciones permiten desviar la energía desde el almacenamiento a largo plazo para su uso inmediato, mejorar el tono cardiovascular e inhibir o disminuir la función del sistema gastrointestinal, reproductor e inmune (Sapolsky, Romero, & Munck 2000; Sapolsky 2002). El eje HPA deja de responder al estresor por un mecanismo de retroalimentación negativa ejercido por los glucocorticoides liberados que inhiben directamente su activación ante estímulos adicionales (Matteri *et al.* 2000; Boonstra, 2005; Dickens *et al.* 2010).

En situaciones de estrés crónico, el animal es expuesto a un estresor persistente o a una serie de estresores agudos que inician respuestas de estrés consecutivas múltiples. Los cambios fisiológicos y comportamentales iniciales (bajo estrés agudo) que facilitan la supervivencia inmediata ya no son beneficiosos y pueden ser perjudiciales para el organismo. La desregulación de mediadores como la liberación crónica de GC y catecolaminas puede producir cambios en el organismo en general y en el cerebro en particular, que resultan deletéreos para el animal (Dallman, 2003; Dickens *et al.* 2010). La activación prolongada del eje HPA afecta el crecimiento y desarrollo del individuo por supresión de la secreción de la hormona de crecimiento (STH), e inhibe a su vez los efectos del factor de crecimiento insulínico I (IGF-1, por sus siglas en inglés) (Charmandari *et al.* 2005), y de otros factores de

crecimiento en los tejidos diana (Burguera *et al.* 1990). El estrés crónico tiene también efectos catabólicos, ya que los GC, al antagonizar las acciones de la hormona de crecimiento (STH) y de los esteroides sexuales sobre el catabolismo del tejido graso (lipólisis) y anabolismo muscular y óseo (Charmandari *et al.* 2005), resultan en disminución de la masa corporal (ósea y muscular), y supresión de la actividad osteoblástica. La función gastrointestinal también se ve afectada porque, a largo plazo, el estrés inhibe la secreción de ácido gástrico, a la vez que inhibe la motilidad gástrica, y estimula la función motora a nivel del colon (Tache *et al.* 1993). Estudios en ratas sometidas a estrés crónico reportaron un estado de hiperplasia en la zona glomerular y en la parte externa de la zona fasciculada de la glándula adrenal, e hipertrofia en la parte interna de las zonas fasciculada y medular (Ulrich-Lai *et al.* 2006) y un aumento en el espesor de la zona fascicular (Pellegrini *et al.* 1995). A nivel del sistema inmune, además de inhibir la respuesta inflamatoria (Mastorakos *et al.* 1999) y la producción de varias citoquinas (Tait *et al.* 2008), el estrés crónico disminuye la maduración, selección y proliferación de linfocitos (Griffin 1989), y suprime la producción de anticuerpos (Ottaviani y Franceschi 1996; Maule y VanderKooi 1999), comprometiendo la resistencia general a las enfermedades (Dhabhar y McEwen, 1997).

Algunos parásitos endémicos, en el sentido epidemiológico, pueden ser raramente patógenos, pero podrían llegar a ser importantes reguladores de la población cuando los hospedadores están estresados (Ould & Welch, 1980; Scott, 1988; Brown *et al.* 2003). Algunos estudios muestran que ciertos componentes del sistema inmune se estimulan por el estrés, sobre todo en fases tempranas (Martin 2009). Sin embargo, está ampliamente aceptado que el estrés prolongado (crónico) disminuye la función inmune a través de los mecanismos anteriormente mencionados (HPA y los glucocorticoides), dejando a los individuos más susceptibles a la infección (Webster *et al.* 2002; Sapolsky *et al.* 2000). Se ha sugerido que esta vulnerabilidad estrés-dependiente del hospedador es el mecanismo por el cual los parásitos ejercen un control sobre las poblaciones de sus hospederos, ya que los hospedadores tienden a estar estresados y con una condición deteriorada (convirtiéndose así más vulnerables a sus parásitos) cuando sus densidades son altas (Beldomenico y Begon 2010).

Con la premisa que los helmintos son causa y consecuencia de la condición de salud de los carpinchos, el objetivo del presente proyecto es evaluar la relación de la intensidad del parasitismo de determinados helmintos y/o protozoarios con el estrés, y relacionar las cargas parasitarias con factores ambientales y demográficos (i.e. estacionalidad, abundancia relativa de hospedero, clima).

Hipótesis:

H1: La condición empobrecida de individuos de *Hydrochoerus hydrochaeris* está asociada a una alta carga de determinados parásitos gastrointestinales específicos.

H2: El estrés (nutricional o psico-físico) predispone a mayores cargas de determinados parásitos gastrointestinales específicos en individuos de *H. hydrochaeris* (estudio experimental en cautiverio).

H3: Condiciones ambientales desfavorables se reflejan en un aumento de la carga de parásitos gastrointestinales específicos en poblaciones de carpinchos silvestres (estudio observacional).

Objetivo General:

- Evaluar el uso de la intensidad de los parásitos gastrointestinales específicos como herramienta para la evaluación de salud poblacional en carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*).

Objetivos Específicos:

- Determinar la estacionalidad de parásitos específicos y los factores ambientales relacionados con su abundancia en poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* en la ecorregión “Lagunas y Esteros del Iberá” provincia de Corrientes.
- Estimar parámetros de dinámica poblacional de poblaciones de carpinchos que habitan en la ecorregión “Lagunas y Esteros del Iberá” y correlacionarlos con la dinámica del parasitismo gastrointestinal.
- Describir las dinámicas de salud de las poblaciones estudiadas en relación a los factores ambientales y las cargas parasitarias.
- Determinar experimentalmente (en cautiverio) si el estrés nutricional y psico-físico produce un aumento en el conteo de formas evolutivas de helmintos y/o protozoarios monoxenos específicos en las heces.

Para abordar las preguntas y objetivos de la presente tesis se realizaron tres estudios: uno observacional longitudinal, otro observacional transversal y uno experimental. En estos tres estudios se han utilizado diferentes técnicas y métodos, algunos de los cuales se han puesto a punto para el carpincho.

Breve descripción de los estudios realizados

1. **Estudio observacional transversal:** En el marco del proyecto “Características ecológicas de *Amblyomma dubitatum* Neuman 1899 (Acari: Ixodidae) en Argentina” de la tesis doctoral de Lic. Valeria Debarbora, se autorizó la eutanasia con fines científicos mensual de tres ejemplares de carpincho en la Estancia Rincón del Socorro, Mercedes, provincia de Corrientes con permiso de la Dirección de Recursos Naturales de la provincia de Corrientes durante un programa para limitar la superpoblación. Dicha estancia se ubica dentro de la ecorregión “Lagunas y Esteros del Iberá”. Para aprovechar los datos que podrían aportar estos individuos, desde agosto de 2010 hasta septiembre de 2012, se realizó la necropsia de los ejemplares eutanaciados mensualmente. De esta forma, al dato que proporciona el muestreo de materia fecal en este sitio (estudio observacional longitudinal), se suma información muy valiosa, ya que además de ampliar nuestro conocimiento sobre valores hematológicos, y otros parámetros fisiológicos de carpinchos silvestres, nos permitió: i) confirmar que el conteo de huevos en MF se relaciona con la carga parasitaria; ii) reforzar los resultados del experimento en cuanto a la relación de la carga parasitaria con el estado fisiológico e indicadores de estrés del individuo. (Capítulo 2 y 3).
2. **Estudio observacional longitudinal:** Para el estudio de las dinámicas de salud de poblaciones silvestres de carpincho se realizó un estudio preliminar en el cual se estudiaron y siguieron en el tiempo a dos poblaciones de carpinchos en la provincia de Corrientes desde el mes de noviembre de 2010 hasta diciembre de 2011. Este estudio preliminar tuvo como objetivo principal ser un estudio piloto para poner a punto todas las metodologías de muestreo a ser utilizadas para concretar los objetivos del plan de trabajo. Se seleccionaron dos sitios de

muestreo: 1) Estancia Rincón del Socorro (reserva privada), Mercedes, Corrientes, que se encuentra dentro de la reserva Iberá (S 57.43051; W 28.65574) y 2) Estancia Santa Bárbara, Santa Rosa, Corrientes, (S 58.40209; W28.6029). Ambas áreas se encuentran dentro de la ecorregión "Lagunas y Esteros del Iberá" (a 90 km de distancia en línea recta una de otra). El muestreo se realizó mensualmente. A partir de febrero de 2012 se continuó con dicho estudio hasta abril de 2013 y en este caso el muestreo fue bimensual. En cada sitio se muestrearon dos cuerpos de agua. En cada cuerpo de agua, se recorrieron dos transectas paralelas a la línea de costa de 300 metros cada una separadas entre sí por 200 metros (aproximadamente un 10 % del total del perímetro). Para el estudio de las variaciones a lo largo del año de la carga de determinados parásitos gastrointestinales en cada cuerpo de agua se recolectaron 20 heces frescas (un total de 40 heces por sitio). Las heces se almacenaron para su posterior análisis copro-parasitológicos. Además se recolectó información de otros factores (variables climáticas y densidad relativa de carpinchos) relacionados con dichas variaciones. (Para más detalles dirigirse al capítulo 3).

- 3. Estudio experimental con carpinchos en cautiverio:** Con el objetivo de evaluar el efecto neto de dos tipos de estrés crónico en distintas interacciones hospedador-parásito, se realizó un experimento con 30 hembras subadultas (entre 6 y 12 meses al comenzar el estudio) provenientes del criadero "Ayu", Corrientes, Argentina. Si bien el experimento comenzó con 30 animales, tres de ellos, tuvieron que ser excluidos por distintas razones al comienzo del experimento (ver capítulo 4). Los 27 carpinchos restantes fueron mantenidos en cautiverio desde el 29 de agosto al 18 de diciembre de 2009 en la "Estación zoológica experimental granja La Esmeralda", Santa Fe. Las hembras se distribuyeron en seis recintos, con cinco o 4 animales cada uno, asignándolas a cada recinto mediante un muestreo al azar estratificado, para asegurar una distribución equitativa de las masas corporales. A lo largo del estudio se evaluó el impacto de la restricción de alimento y el estrés físico (captura y retención) en la intensidad de la infección de los nematodos gastrointestinales específicos y coccidios, y cómo estos factores de estrés afectan el crecimiento, condición corporal y algunos parámetros inmunofisiológicos de los carpinchos. (Para más detalles dirigirse al capítulo 4).

Bibliografía

Alvarez, M.R. & Martínez, R.A. (2006) Hydrochoeridae, Agoutidae, Dasyproctidae. *Mamíferos de Argentina, sistemática y distribución* (eds R. Barquez, M.M. Díaz, & R. Ojeda), pp 2010-2012. SAREM, Buenos Aires.

Arenas, P. Etnografía y alimentación entre los Toba-Nachilamole#ek y Wichí-Lhuku'tas del Chaco Central (Argentina). *Latin Gráfica S.R.L.* Buenos Aires, p. 562. 2003.

Bartolomucci, A., Palanza, P., Gaspani, L., Limiroli, E., Panerai, A.E., Ceresini, G., Poli, M.D., & Parmigiani, S. (2001) Social status in mice: behavioral, endocrine and immune changes are context dependent. *Physiology & Behavior* **73**, 401-410.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2009) The vicious circle and infection intensity: The case of *Trypanosoma microti* in field vole populations. *Epidemics* **1**, 162-167.

Beldomenico, P.M. & Begon, M. (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol. Evol.* **25**, 21-27.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2008) The dynamics of health in wild field vole populations: a haematological perspective. *Journal of Animal Ecology* **77**, 984-997.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2008) Poor condition and infection: a vicious circle in natural populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **275**, 1753-1759.

Belloso, C. 2007. Contaminación en las Islas Frente a la Ciudad de Rosario por Futura Expansión de la Explotación Ganadera. [Hptt://www.taller.org.ar/Agua/Humedales/Contaminacion_islas_exp_ganadera.pdf](http://www.taller.org.ar/Agua/Humedales/Contaminacion_islas_exp_ganadera.pdf).

Blanchet, S., Mejean, L., Bourque, J.F., Lek, S., Thomas, F., Marcogliese, D.J., Dodson, J.J., & Loot, G. (2009) Why do parasitized hosts look different? Resolving the "chicken-egg" dilemma. *Oecologia*. **160**, 37-47.

Bolkovic, M.L., Quintana, R.D., Ramadori, D., Elisech, M., & Rabinovich, J. (2006) Proyecto Carpincho. Propuesta para el uso sustentable del carpincho (*Hydrochaeris hydrochaeris*) en la Argentina. *Manejo de fauna silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable* (eds M.L. Bolkovic & D. Ramadori), pp 105-119. Dirección de Fauna Silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación.

Bolkovic, M.L. & Ramadori, D. (2006) Manejo de fauna silvestre en la Argentina. *Programas de uso sustentable* **15**, 150-161.

Boonstra, Rudy. Equipped for life: the adaptive role of the stress axis in male mammals. *Journal of Mammalogy* **86**(2), 236-247. 2005.

Burguera, B., Muruais, C., Penalva, A., Dieguez, C., & Casanueva, F.F. (1990) Dual and selective actions of glucocorticoids upon basal and stimulated growth hormone release in man. *Neuroendocrinology* **51**, 51-58.

Burthe, S., Telfer, S., Begon, M., Bennett, M., Smith, A., & Lambin, X. (2008) Cowpox virus infection in natural field vole *Microtus agrestis* populations: significant negative impacts on survival. *Journal of Animal Ecology* **77**, 110-119.

Chapman,C.A., Wasserman,M.D., Gillespie,T.R., Speirs,M.L., Lawes,M.J., Saj,T.L., & Ziegler,T.E. (2006) Do food availability, parasitism, and stress have synergistic effects on red colobus populations living in forest fragments? *Am.J Phys.Anthropol.* **131**, 525-534.

Charmandari,E., Tsigos,C., & Chrousos,G. (2005) Endocrinology of the stress response. *Annual Review of Physiology* **67**, 259-284.

Corriale,M.J., Orozco,M.M., & Pérez Jiménez,I. (2013) Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. *Mastozoología Neotropical.*

Creel,S., Fox,J.E., Hardy,A., Sands,J., Garrott,B., & Peterson,R.O. (2002) Snowmobile Activity and Glucocorticoid Stress Responses in Wolves and Elk
Actividad de Vehículos para Nieve y Respuestas de Stress Glucocorticoide en Lobos y Alces. *Conservation Biology* **16**, 809-814.

Dallman,M.F. (2003) Stress by any other name? *Hormones and behavior* **43**, 18-20.

Dhabhar,F.S. & McEwen,B.S. (1997) Acute Stress Enhances while Chronic Stress Suppresses Cell-Mediated Immunity *in Vivo*: A Potential Role for Leukocyte Trafficking. *Brain, behavior, and immunity* **11**, 286-306.

Dickens,M.J., Delehanty,D.J., & Michael Romero,L. (2010) Stress: an inevitable component of animal translocation. *Biological Conservation* **143**, 1329-1341.

Freyre,A., Burges,C., Seoane,L., Correa,I., Rodriguez Piquinela,W., Ayala,R., Ayala,J.C., & Montanez,O. (1979) Parásitos encontrados en autopsias de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en Uruguay. *Ann Fac Vet* 65-93.

Gonzalez,J.P., Guiserix,M., Sauvage,F., Guitton,J.S., Vidal,P., Bahi-Jaber,N., Louzir,H., & Pontier,D. (2010) Pathocenosis: A Holistic Approach to Disease Ecology. *Ecohealth.*

González, Giselle. Conociendo lo nuestro. La cultura de los grupos guaranícos del río Paraná y su construcción del sistema alimentario actual. 2001. Universidad de Belgrano. Facultad de Ciencias de la Salud.

Goymann,W. & Wingfield,J.C. (2004) Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. *Animal Behaviour* **67**, 591-602.

Grenfell,B.T., Wilson,K., Isham,V.S., Boyd,H.E.G., & Dietz,K. (1995) Modelling patterns of parasite aggregation in natural populations: trichostrongylid nematode-ruminant interactions as a case study. *Parasitology* **111**, S135-S151.

Griffin,J.F. (1989) Stress and immunity: a unifying concept. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **20**, 263-312.

Gulland,F.M.D. & Fox,M. (1992) Epidemiology of nematode infections of Soay sheep (*Ovis aries* L.) on St Kilda. *Parasitology* **105**, 481.

Gulland,F.M.D. (1995) Impact of infectious diseases on wild animal population: a review. *Ecology of Infectious Diseases in Natural Population* (eds B.T.Grenfell & A.P.Dobson), pp 20-51. Cambridge University Press, Cambridge.

Harper, J.M. & Austad, S.N. (2000) Fecal glucocorticoids: a noninvasive method of measuring adrenal activity in wild and captive rodents. *Physiol Biochem.Zool.* **73**, 12-22.

Holmes, J.C. (1995) Population regulation: a dynamic complex of interactions. *Wildlife Research* **22**, 11-19.

Hudson, P.J., Dobson, A.P., & Newborn, D. (1998) Prevention of Population Cycles by Parasite Removal. *Science* **282**, 2256-2258.

Ives, A.R. & Murray, D.L. (1997) Can Sublethal Parasitism Destabilize Predator-Prey Population Dynamics? A Model of Snowshoe Hares, Predators and Parasites. *Journal of Animal Ecology* **66**, 265-278.

Jacobs, J.D. & Wingfield, J.C. (2000) Endocrine control of life-cycle stages: a constraint on response to the environment? *Condor* **102**, 35-51.

Kandus, P., Quintana, R.D., & Bó, R.F. (2006) *Landscape patterns and biodiversity of the Lower Delta of the Paraná River. Landcover map.* Pablo Casamajor, Buenos Aires.

Kenagy, G.J. & Place, N.J. (2000) Seasonal Changes in Plasma Glucocorticosteroids of Free-Living Female Yellow-Pine Chipmunks: Effects of Reproduction and Capture and Handling. *General and Comparative Endocrinology* **117**, 189-199.

La Marca, E., Lips K.R., Lötters S., Puschendorf R., Ibañez R., Rueda-Almonacid j.v., Schulte R., Marty C., Castro F., Manzanilla-Puppo j., García-Pérez J.L., Bolaños F., ChaveS G., Pounds J.A., Toral E., Young B.E (2005). Catastrophic population declines and extinctions in Neotropical harlequin frogs (Bufonidae: Atelopus). *Biotropica* **37**, 190–201

MacLeod, C.J., Paterson, A.M., Tompkins, D.M., & Duncan, R.P. (2010) Parasites lost - do invaders miss the boat or drown on arrival? *Ecol.Lett.* **13**, 516-527.

Mainardes Pinto, G.R. (2003) Contagem de fezes como índice de abundancia de capibaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). Piracicaba.

Mastorakos, G., Bamberger, C., & Chrousos, G.P. (1999) Neuroendocrine regulation of the immune process. *Cytokines: stress and immunity* 17-37.

Mateo, J.M. & Cavigelli, S.A. (2005) A validation of extraction methods for noninvasive sampling of glucocorticoids in free-living ground squirrels. *Physiol Biochem.Zool.* **78**, 1069-1084.

Matteri, R.L., Carroll, J.A., & Dyer, C.J. (2000) Neuroendocrine responses to stress. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare* 43.

Maule, A.G. & VanderKooi, S.P. (1999) Stress-induced immune-endocrine interaction. *Stress physiology in animals* 205-245.

Moles, A., Bartolomucci, A., Garbugino, L., Conti, R., Caprioli, A., Coccurello, R., Rizzi, R., Ciani, B., & D'Amato, F.R. (2006) Psychosocial stress affects energy balance in mice: Modulation by social status. *Psychoneuroendocrinology* **31**, 623-633.

Moreira, J.R., Ferraz, K.M.P.M., Herrera, E.A., & Macdonald, D.W. (2013) *Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species.* Springer.

Murray, D.L., Cary, J.R., & Keith, L.B. (1997) Interactive Effects of Sublethal Nematodes and Nutritional Status on Snowshoe Hare Vulnerability to Predation. *Journal of Animal Ecology* **66**, 250-264.

- Newey,S., Hirgood,S.J., & Hudson,P.J. (2004) Do parasite burdens in spring influence condition and fecundity of female mountain hares *Lepus timidus*? *Wildlife Biology* **10**, 171-176.
- Newey,S., Shaw,D.J., Kirby,A., Montieth,P., Hudson,P.J., & Thirgood,S.J. (2005) Prevalence, intensity and aggregation of intestinal parasites in mountain hares and their potential impact on population dynamics. *International Journal for Parasitology* **35**, 367-373.
- Ojasti,J. & Sosa Burgos,L.M. (1985) Density regulation in population of capybara. *Acta Zoologica Fennica* **173**, 81-83.
- Ojasti,J. & Herrera,E. (2011) *Estudio biológico del chigire o capibara*. Editorial Equinoccio.
- Ottaviani,E. & Franceschi,C. (1996) The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. *Progress in Neurobiology* **48**, 421-440.
- Pedersen,A.B. & Greives,T.J. (2008) The interaction of parasites and resources cause crashes in a wild mouse population. *J Anim Ecol.* **77**, 370-377.
- Pellegrini, A.; Grieco, M.; Materazzi, G.; Gesi, M. & Ricciardi, P. (1998) Stress-induced morphohistochemical and functional changes in rat adrenal cortex, testis and major salivary glands. *Histochemical Journal* **30**, 695-701.
- Quintana,R.D., Bó,R., Merler,J., Minotti,P., & Malvárez,A.I. (1992) Situación y uso de la fauna silvestre en la región del Delta del Río Paraná (Argentina). *Iheringia, Série Zoologia, Porto Alegre* **73**, 13-33.
- Quintana,R.D. & Rabinovich,J.E. (1993) Assessment of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) populations in the wetlands of Corrientes, Argentina. *Wetlands Ecology and Management* **2**, 223-230.
- Quintana,R.D. & Bolkovic,M.L. (2013) Use of Capybaras in Argentina. *Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species* (eds José Roberto Moreira, Katia Maria P.M.B.Ferraz, Emilio A.Herrera, & David W.Macdonald), pp 345-356. Springer New York.
- Quintana,R.n.o. (2002) Influence of livestock grazing on the capybara's trophic niche and forage preferences. *Acta Theriol* **47** , 175-183.
- Radpath,S.M., Mougeot,F., Leckie,F.M., Elston,D.A., & Hudson,P.J. (2006) Testing the role of parasites in driving the cyclic population dynamics of a gamebird. *Ecology Letters* **9**, 410-418.
- Reading, C. J. (2007) Linking global warming to amphibian declines through its effects on female body condition and survivorship. *Oecologia* **151**, 125–131. (doi:10.1007/s00442-006-0558-1)
- Redford,K.H., Amato,G., Baillie,J., Beldomenico,P., Bennett,E.L., Clum,N., Cook,R., Fonseca,G., Hedges,S., Launay,F., Lieberman,S., Mace,G.M., Murayama,A., Putnam,A., Robinson,J.G., Rosenbaum,H., Sanderson,E.W., Stuart,S.N., Thomas,P., & Thorbjarnarson,J. (2011) What Does It Mean to Successfully Conserve a (Vertebrate) Species? *BioScience* **61**, 39-48.
- Romero,L.M. (2004) Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology & Evolution* **19**, 249-255.
- Salas,V. & Herrera,E.A. (2004) Intestinal helminths of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, from Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**, 563-566.
- Sapolsky,R.M. (2002) Endocrinology of stress response. *Behavioral Endocrinology* (eds J.B.Becker, Breedlove.S.M., D.Crews, & M.M.McCarthy), pp 409-450. MT Press, Cambridge.

Sapolsky,R.M., Romero,L.M., & Munck,A.U. (2000) How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews* **21**, 55-89.

Sinkoc,A.L., Brum,J.G.W., & Muller,G. (2009) Gastrointestinal helminths of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) in Cattle Breeding Farm in the area of the Ecological Reserve of Taim, Rio Grande. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **52**, 327-333.

Smith,K.F. (2009) Global pathogen distributions: a win-win for disease ecology and biogeography. *Ecohealth*. **6**, 479-480.

Smits,J.E. (2007) Are we enlightened about the immunocompetence of a severely inbred population of New Zealand robins? Challenges inherent in studies using immunological endpoints. *Animal Conservation* **10**, 14-16.

Stien,A., Irvine,R.J., Ropstad,E., Halvorsen,O., Langvatn,R., & Albon,S.D. (2002) The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. *Journal of Animal Ecology* **71**, 937-945.

Suzán Azpiri,G., Galindo Maldonado,F., & Ceballos González,G. (2000) La importancia del estudio de enfermedades en la conservación de fauna silvestre. *Veterinaria México* **31**, 223-230.

Tache,Y., Mönnikes,H., Bonaz,B., & Rivier,J. (1993) Role of CRF in Stress-Related Alterations of Gastric and Colonic Motor Function. *Annals of the New York Academy of Sciences* **697**, 233-243.

Tait,A.S., Butts,C.L., & Sternberg,E.M. (2008) The role of glucocorticoids and progestins in inflammatory, autoimmune, and infectious disease. *Journal of Leukocyte Biology* **84**, 924-931.

Tompkins,D.M. & Begon,M. (1999) Parasites can regulate wildlife populations. *Parasitol.Today* **15**, 311-313.

Touma,C. & Palme,R. (2005) Measuring Fecal Glucocorticoid Metabolites in Mammals and Birds: The Importance of Validation. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1046**, 54-74.

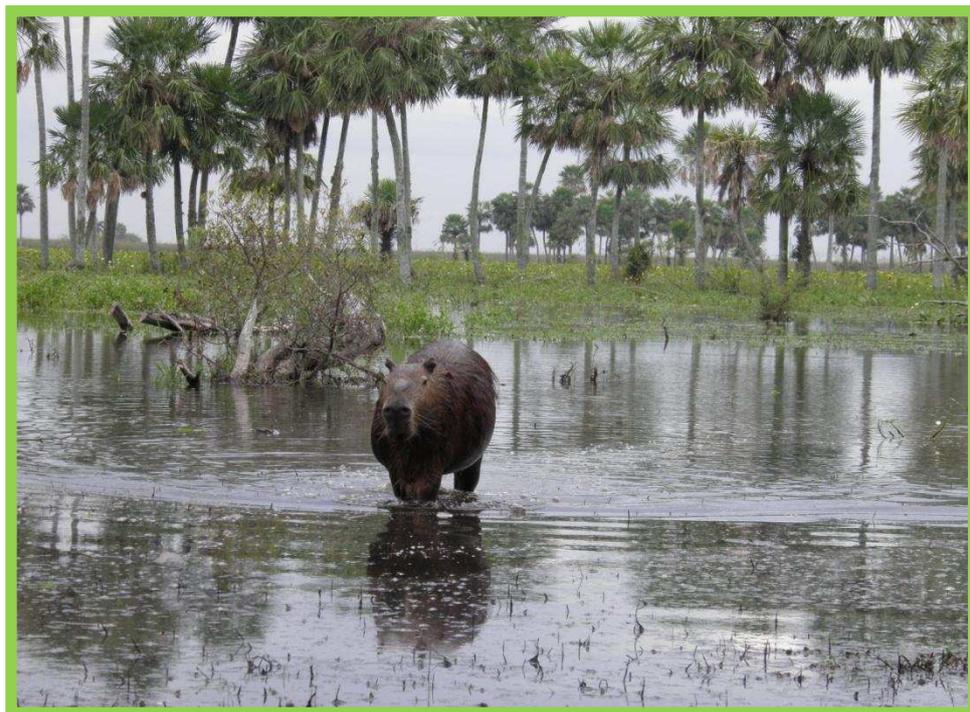
Ulrich-Lai Y.M., Figueiredo H.F., Ostrander M.M, Choi D.C., Engeland W.C., Herman J.P. 2006 Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolims* **291**, E965-E973. DOI: 10.1152/ajpendo.00070.2006

Wingfield, J.C., Hunt,K., Breuner,C., Dunlap,K., Fowler,G.S., Freed,L., & Lepson,J. (1997) Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. *Behavioral Approaches to Conservation in the Wild* (eds J.R.Buchholz & R.Clemmons), pp 95-131. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Wingfield,J.C. & Sapolsky,R.M. (2003) Reproduction and Resistance to Stress: When and How. *Journal of Neuroendocrinology* **15**, 711-724.

Capítulo 2

“Descripción de los parásitos y dinámicas parasitarias”



INTRODUCCIÓN GENERAL

En estado silvestre, los carpinchos son hospederos de numerosos parásitos gastrointestinales, con los cuales conviven a diario, manteniendo un dinámico y delicado balance parásito-hospedador. Determinadas circunstancias, como el cambio de hábitat, disminución del territorio, presión de caza, entre otras, podrían generar estrés e influir en este equilibrio entre el parásito y su hospedador (Pino *et al.*, 2006). Esta situación estresante predispondría a una mayor carga parasitaria, pudiendo así agravar aún más el cuadro y favorecer de esta manera la declinación poblacional del hospedador. Por lo tanto, la evaluación de los parásitos en especies silvestres como el carpincho es muy importante para lograr comprender las situaciones adversas a las que se enfrentan las poblaciones de fauna, conocimiento fundamental a la hora de administrar el uso de una especie como recurso faunístico.

Resulta entonces relevante llevar adelante estudios eco-epidemiológicos que permitan conocer y desarrollar técnicas prácticas para evaluar de manera no invasiva, económica y efectiva las dinámicas del parasitismo de especies como el carpincho, de gran potencial de uso como recurso renovable. Como primer paso en la utilización de técnicas para la evaluación de dinámicas de parásitos en poblaciones silvestres, es necesario conocer su comunidad componente, las interacciones parasitarias existente dentro de esas comunidades y como varían a través del tiempo y espacio.

Este capítulo se divide en dos partes: 1. En una primera parte, se describe la comunidad parasitaria de las poblaciones de carpinchos estudiadas y la relación parásitos adultos-huevos en materia fecal y 2. En una segunda parte se describen las dinámicas parasitarias de esas poblaciones y sus relaciones con los factores ambientales y su densidad, así como también se aporta información sobre las posibles asociaciones inter-específicas de los parásitos gastrointestinales de carpinchos, con el propósito de revelar si estas asociaciones son importantes en la definición de la estructura de la comunidad parasitaria.

PARTE 1. LOS PARÁSITOS

La comunidad parasitaria del carpincho

En los carpinchos se han observado diversos parásitos gastrointestinales pertenecientes a distintos grupos: nematodos, cestodos, trematodos y coccidios. Algunos propios de la especie, como es el caso de los nematodos *Viannella hydrochoeri*, *Hydrochoerisnema anomalobursata*, y otros que comparten con animales domésticos, como *Trichostrongylus axei* (Vieira *et al.*, 2006a). Distintos autores reportaron la presencia de parásitos gastrointestinales en carpinchos. En Argentina se diagnosticaron los nematodos *Viannella hydrochoeri*, huevos de la superfamilia Trichostrongyloidea, *Echinocoleus hydrochoeri*, *Strongyloides chapini* y *Protozoophaga obesa*; los géneros de cestodos *Moniezia* sp. y *Monoecocestus hydrochoeri*, *Monoecocestus* sp. y coccidios del género *Eimeria* sp. (Ortiz & Rizzello, 2004; Sarmiento *et al.*, 2005, Ezquiaga *et al.* 2007; Corriale *et al.* 2011; Corriale *et al.* 2013). En Brasil se identificaron los nematodos *Viannella hydrochoeri*, *Hydrochoerisnema anomalobursata*, *Trichostrongylus axei*, *Strongyloides chapini*, *Capillaria hydrochoeri* (*Echinocoleus hydrochoeri*), *Trichuris* sp. y *Protozoophaga obesa*; los cestodos *Monoecocestus hagmanni*, *M. macrobursatum*, *M. hydrochoeri* y *M. jacobi*; los trematodos *Hippoecrepis hippoecrepis*, *Taxorchis schistocotyle*, *Hidrocheristrema cabrali* (*Taxorchis cabrali*), *Neocotyle neocotyle*, *Nudacotyle valdevaginatus* y *N. tertius* y los coccidios *Eimeria trinidadensis*, *E. ichiloensis*, *E. boliviensis* y *E. araside* (Bonuti *et al.*, 2002; Vieira *et al.* 2006 ; Gurgel *et al.*, 2007; Albuquerque *et al.*, 2008 y Sinkoc *et al.*, 2009). En Bolivia y Venezuela describieron los ooquistes de los coccidios *E. trinidadensis*, *E. ichiloensis* y *E. boliviensis* (Casas *et al.*, 1995). En Venezuela, Salas y Herrera (2004) encontraron en contenido gastrointestinal de 40 capibaras, dos especies de cestodos (*M. macrobursatum* y *M. hagmanni*), dos especies de nematodos (*V. hydrochoeri* y *P. obesa*) y dos de trematodos (*H. hippoecrepis* y *T. schistocotyle*).

Sin embargo, la información aún es limitada. A pesar de su extensa utilización y de representar una especie emblemática de los humedales del noreste argentino, los carpinchos han sido poco estudiados en nuestro país, por lo que el conocimiento sobre sus comunidades de parásitos es escaso. Así, el estudio de los parásitos de carpinchos puede aportar bases para el manejo de la especie.

Por otra parte para saber si es posible utilizar el análisis de materia fecal para el monitoreo de carpinchos silvestres, es necesario conocer si los conteos de huevos en materia fecal son indicadores de la carga gastrointestinal de las distintas especies parásitas. Esta información podría ser utilizada para evaluar poblaciones de la especie de una manera sencilla y no invasiva, como es la recolección de heces en su hábitat.

Objetivos

El objetivo general de este capítulo es describir la comunidad parasitaria de las poblaciones de carpinchos estudiadas.

Objetivos específicos:

- Describir las formas evolutivas de parásitos gastrointestinales halladas en la materia fecal de los carpinchos en cautiverio (experimento, capítulo 4) y en estado silvestre.

- Reportar las especies de helmintos presentes en los carpinchos silvestres de la ecorregión “Lagunas y Esteros del Iberá”.
- Determinar si los conteos de huevos de nematodos gastrointestinales en materia fecal de carpinchos son indicadores de la carga parasitaria interna de dichos parásitos adultos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización del área de estudio

Las muestras de heces de carpinchos pertenecientes a las poblaciones silvestres así como los parásitos adultos obtenidos de carpinchos eutanasiados, se han recolectado en la ecorregión “Lagunas y Esteros del Iberá”.

El macrosistema Iberá se encuentra en la provincia de Corrientes y comprende un complejo de ecosistemas de aproximadamente 12.000 km (Neiff, 1981) con predominio de ambientes palustres (esteros y bañados) que interconectan extensos lagos poco profundos, unidos por cursos de agua de distinto orden (Neiff y Poi de Neiff, 2005). Fue declarado Reserva Natural Iberá en 1983 por constituir uno de los corredores más importantes de aves migratorias, una valiosa reserva de agua dulce y refugio de numerosas especies autóctonas. Contiene la *Ecorregión Lagunas y Esteros del Iberá* (28°31'S 57°09'O), de 24.550 has, declarado sitio Ramsar en enero de 2002 (Ramsar List, 2012). Esta Reserva se caracteriza también por albergar grandes poblaciones de carpinchos uniformemente distribuidas.

El clima es subtropical húmedo, con temperaturas medias mínimas de 16-17°C en junio y julio y máximas de 27-28°C en enero y febrero (rango -5 a 44). Las precipitaciones medias anuales son de aproximadamente 1700 mm (Neiff y Poi de Neiff, 2005).

Las grandes unidades de vegetación y ambiente permiten dividir a la Reserva Iberá en tres distritos fitogeográficos:

1. Oriental chaqueño: representa la mayor parte de la reserva. Las comunidades más representativas son los pastizales y sabanas secas a húmedas de capú-puytá (*Andropogon lateralis*), espartillares de *Elyonurus muticus*, palmares de *Butia paraguayensis*, praderas húmedas de *Axonopus compressus* y *A. affinis* y bosques higrófilos. Así también, están presentes los pirizales de esterros y embalsados (*Cyperus giganteus*, *Scirpus* spp., *Rhynchospora corymbosa*, *Fiurema robusta*) y los pajonales de *Panicum* spp. y *Paspalum durifolium*.

2. Ñandubay: presenta distintas comunidades vegetales, como sabanas parque y sabanas mixtas de *Prosopis affinis* con mosaico de pastizales de *Andropogon lateralis*, praderas de *Paspalum notatum*, *Axonopus argentinus*, flechillares de *Aristida venustula* y espartillares de *Elyonurus muticus*. Posee bosques higrófilos cuyos principales componentes son el lapacho negro (*Tabebuia heptaphylla*), el ivirá pitá (*Peltophorum dubium*), el azota caballo (*Luhea divaricata*), timbó (*Enterolobium cortisiliquum*), guayaibí (*Patagonula americana*), alecrín (*Holocalyx balansae*), ombú (*Phytolacca dioica*), ceibo (*Erythrina cristagalli*), laurel amarillo (*Nectandra angustifolia*), pindó (*Arecastrum romanzoffianum*), y bosques con *Prosopis*: bosques abiertos con predominancia de ñandubay (*Prosopis affinis*), algarrobo negro (*P. nigra*), aromito (*Acacia caven*) y quebracho blanco

(*Aspidosperma quebracho-blanco*), especies leñosas que sirven de soporte a trepadoras y a numerosos líquenes y otras epífitas.

3. Campos correntino-misioneros: presenta comunidades de malezales de *Andropogon lateralis*, *Sorghastrum agrostoides* e *Hypogynium virgatum*, pajonales de *Paspalum durifolium*, *Rhynchospora subgibbosa*, *Hypogynium virgatum* y *Rhynchospora corymbosa*, prados hidrófilos de *Eleocharis* spp., *Luziola peruviana* y pastizales de suelos semianegados con *Paspalum guaraniticum*, *P. maculosum*, *Rhynchospora* spp. y *Axonopus argentinus* (Plan General de Manejo de la Reserva Iberá, 2002).

Muestras de materia fecal

Fecas del experimento

Durante el experimento realizado con hembras de carpinchos provenientes del Criadero "Ayuí" (Capítulo 4), se recolectaron heces de cada uno de los carpinchos. Las 27 hembras con las cuales se llevó a cabo el experimento, se distribuyeron en seis recintos. Cada carpincho fue marcado mediante un tatuaje numérico en la oreja derecha y para facilitar la identificación a simple vista, se les decoloró el pelaje de una parte del cuerpo con agua oxigenada de 40 volúmenes y polvo decolorante. Así las marcas dentro de cada recinto podían ser: paletas, muslos, cruz, anca, y ausencia de decoloración. Esto permitió tener heces identificadas individualmente sin tener que capturar a los individuos. Dos días a la semana (días martes y miércoles) se observaba a los animales en forma continua para recolectar las heces inmediatamente luego de la deposición. Para ello se utilizaron bolsas de polietileno las cuales eran rotuladas con fecha de recolección y la identificación de cada individuo. Las muestras recolectadas fueron colocadas en una conservadora con refrigerantes, para luego ser transportadas y analizadas en el Laboratorio de Ecología de Enfermedades de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL, Esperanza, Santa Fe. Para la identificación de los huevos se utilizaron heces que se recolectaron a lo largo del experimento. Para la comparación del número de huevos en las heces con el número de parásitos gastrointestinales adultos, se utilizó materia fecal obtenida directamente del recto de los animales que luego fueron sacrificados ese mismo día.

Fecas del campo

Para la recolección de muestras de materia fecal de poblaciones de carpinchos silvestres, se seleccionaron dos sitios de muestreo: 1) Estancia Rincón del Socorro (reserva privada), Mercedes, Corrientes, que se encuentra dentro de la reserva Iberá (28° 39' 20.664"S; 57° 25' 49.8354"O), en la cual no hay presencia de ganado y 2) Estancia Santa Bárbara, Santa Rosa, Corrientes, (28° 36' 10.44"S; 58° 24' 7.524"O) (Figura 1). Ambas áreas se encuentran a 90 km de distancia en línea recta una de otra. Entre noviembre del 2010 y diciembre de 2011 el muestreo se realizó mensualmente. A partir de febrero de 2012 y hasta abril de 2013 se continuó con dichos muestreos en forma bimensual. En cada sitio se muestrearon dos cuerpos de agua. En cada cuerpo de agua, se recorrieron dos transectas paralelas a la línea de costa de 300 metros cada una separadas entre sí por 200 metros (aproximadamente un 10 % del total del perímetro). En cada cuerpo de agua se recolectaron 20 heces frescas (un total de 40 heces por sitio), inmediatamente después de su deposición.

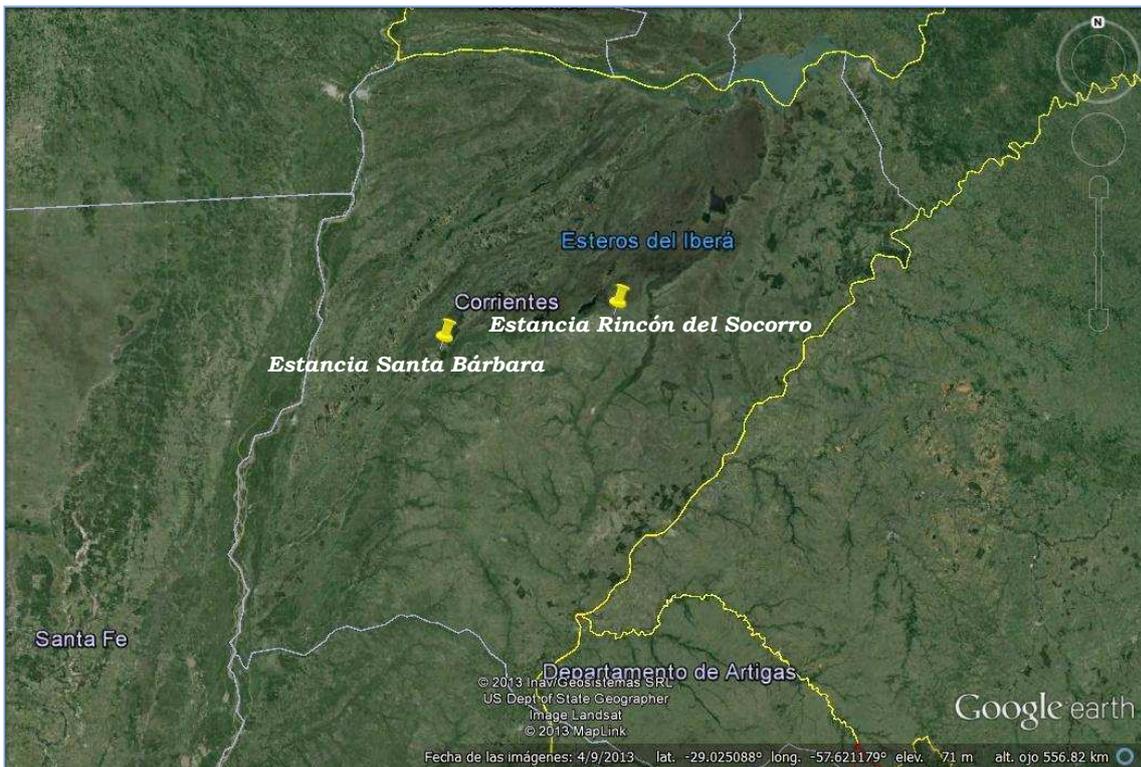


Figura 1. Sitios de muestreo donde se recolectaron las muestras de heces: Estancia Santa Bárbara y Estancia Rincón del Socorro, ambas en la provincia de Corrientes.

Este material destinado al análisis coproparasitológico, se juntó dentro de bolsas individuales de polietileno y se rotuló con microfibra indeleble con el número de feca y la fecha de recolección en la parte interna de las bolsas. Se cerró cada bolsa intentando excluir todo el aire posible y luego se conservaron refrigeradas en una conservadora hasta llegar al laboratorio, donde fueron trasladadas a una heladera (4°C) y procesadas dentro de los 10 días.

Análisis de materia fecal

Los análisis coproparasitológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ecología de Enfermedades (LEcEn) del Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET), Esperanza, Santa Fe. Se utilizó la técnica cuali-cuantitativa de Wisconsin modificada la cual se basa en la flotación de los huevos y ooquistes de parásitos en un medio hiperosmótico. A continuación se describe la técnica (Figura 2):

1. Se pesan 3 gramos de materia fecal con una balanza electrónica de precisión.
2. Se colocan los 3 gramos en un mortero y se le agregan 42 ml de agua.
3. Se homogeniza la mezcla.
4. Se vierten 15 ml de la misma dentro de un tubo de centrifuga filtrándola con un colador de 100 micras. De este modo, el contenido del tubo de ensayo correspondería a un gramo de materia fecal.
5. Se centrifuga la muestra a 1600 revoluciones durante dos minutos.
6. Se descarta el sobrenadante, luego se agita enérgicamente para descomprimir el sedimento y se completa el volumen de cada tubo de ensayo con solución de Bensbrook (solución

sobresaturada de azúcar preparada con 1000 g de azúcar en 800 ml de agua), hasta formar un menisco convexo.

7. Se coloca un cubreobjetos 22 x 22 y se centrifuga a 1000 rpm durante dos minutos.
8. Se coloca el cubreobjetos sobre un portaobjetos
9. Se observa el preparado bajo microscopio

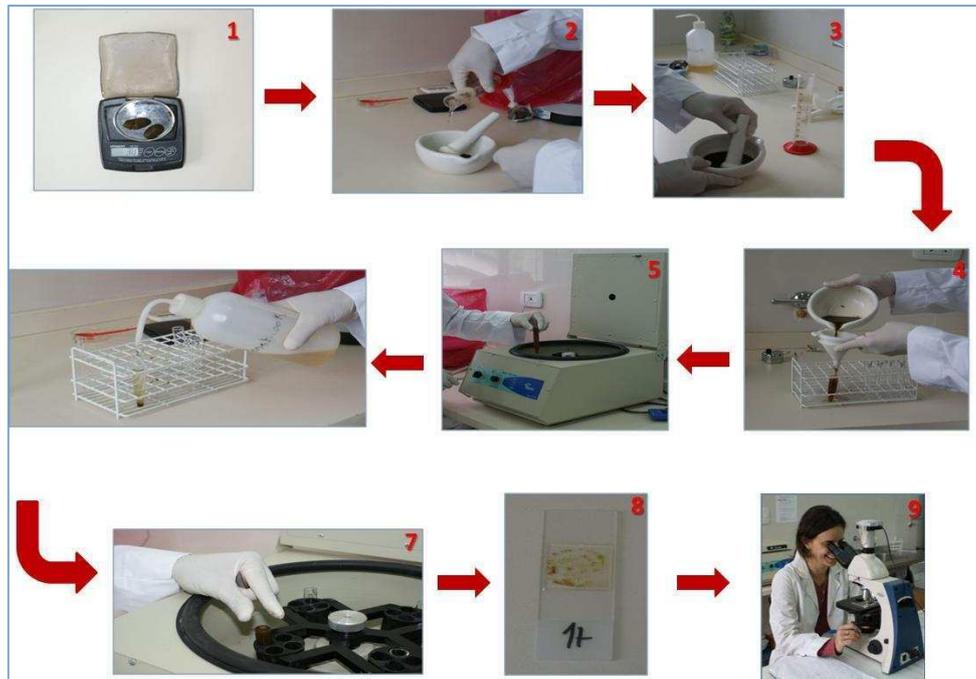


Figura 2. Técnica cuali-cuantitativa de Wisconsin modificada para obtener los conteos de huevos y ooquistes de los parásitos de carpincho.

Una vez realizado el conteo de huevos y ooquistes por gramo de materia fecal en el microscopio óptico Olympus CHS, se procedió a la toma de fotos digitales de los huevos de distintos preparados con la cámara Olympus Camedia C-5000, adaptada al microscopio. Por otro lado, alícuotas de heces fueron cultivadas con bicromato de potasio al 3 % para esporular ooquistes (Coyle Gallegos, 2003) y poder así identificar género y/o especie de coccidios.

Mediante programa Image Pro Plus 6.0 se analizaron las fotos y se tomaron las medidas de las formas evolutivas: largo y ancho. Además, se compararon las fotos de los huevos de las heces con las fotos de huevos obtenidos de las hembras adultas identificadas en los tractos gastrointestinales de los carpinchos mantenidos en cautiverio.

Obtención y determinación de los parásitos gastrointestinales adultos

Para recuperar los parásitos adultos de las diferentes partes anatómicas de los tractos gastrointestinales de los capinchos del experimento y de los silvestres y para luego comparar la carga parasitaria interna con los conteos de huevos en materia fecal, se realizó la necropsia de los carpinchos (27 del experimento y 26 silvestres). Se les extrajo materia fecal del recto y se retiró todo el tracto gastrointestinal. Se procesaron por separado: estómago, intestino delgado, ciego e intestino

grueso (colon y recto), siguiendo las técnicas descritas en Ueno & Gutierrez (1988). El intestino delgado fue procesado utilizando un enterótomo para raspar las mucosas. El ciego y el estómago fueron abiertos y su contenido volcado en baldes graduados. Las paredes de los órganos se lavaron con agua corriente y se raspó la mucosa para desprender parásitos que pudiesen estar adheridos a las mismas. Debido al gran volumen de contenido de estos tres órganos: estómago, intestino delgado y ciego, se calculó la intensidad de helmintos en estas secciones tomando alícuotas que han demostrado ser buenos estimadores de toda las secciones del intestino en otros mamíferos (Morales *et al.* 1991). Los contenidos en los baldes graduados se homogeneizaron y luego se extrajo una alícuota del 10%, la cual fue almacenada en recipientes rotulados con fibra indeleble. Por último se les agregó formol 40% equivalente al 5% del volumen de cada recipiente para su conservación. Los parásitos del intestino grueso, los céstodes del intestino delgado y los trematodes del ciego, fueron recolectados y contados al momento de la disección, mientras que el recuento de los parásitos del estómago, intestino delgado (excepto los céstodes) y ciego se llevó a cabo en el laboratorio bajo lupa estereoscópica BOECO NTB-3^a.

Análisis estadístico

Se utilizaron modelos lineales generalizados (GLM) con respuesta binomial negativa para calcular la magnitud de la relación entre los huevos en materia fecal y los parásitos adultos de los tractos gastrointestinales de carpinchos: *S. chapini*, *E. hydrocheri*, *Trichuris* sp., superfamilia Trichostrongyloidea (debido a que los huevos de las especies *V. hydrochoeri*, *H. anomalobursata* y *T. cf. axei* son similares entre sí y no pueden diferenciarse bajo microscopio se los agrupó en esta superfamilia) y los cestodes *Monoecocestus* sp. Se utilizó el paquete MASS (Venables y Ripley 2002) del software estadístico R. Además se reportaron los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman y sus respectivos valores de p. Para estos análisis se tuvo en cuenta el término interacción con el lugar de procedencia de la muestra (silvestre o del experimento), ya que los carpinchos de ambos grupos, difieren en cuanto a dieta, sexos, edad, etc.

RESULTADOS

Descripción de formas evolutivas

En los análisis coproparasitológicos de los carpinchos estudiados fueron hallados huevos de nematodos gastrointestinales de la superfamilia Trichostrongyloidea (*Viannella hydrochoeri* (familia Viannaiidae), *Hydrochoerisnema anomalobursata* (familia Viannaiidae), *Trichostrongylus cf. axei* (familia Trichostrongylidae)); de la superfamilia Rhabditoidea, *Strongyloides cf. chapini* (familia Strongyloididae); de la superfamilia Trichinelloidea, *Echinocoleus hydrochoeri* (familia Trichinellidae), *Trichuris* sp. (familia Trichuridae) y ooquistes de coccidios pertenecientes al género *Eimeria*. A partir de las medidas tomadas de los ooquistes y las esporulaciones realizadas, las formas evolutivas encontradas en este trabajo, son afines a las siguientes especies: *Eimeria trinidadensis*, *Eimeria ichiloensis* y *Eimeria boliviensis*. En la Tabla 1 se describen el rango, promedio y desvío estándar de las formas evolutivas halladas para cada grupo taxonómico.

 Nematodos

Los huevos pertenecientes a la superfamilia Trichostrongyloidea presentaron coloración grisácea-amarronada, forma elipsoidal, con extremidades polares simétricas y rodeadas por una doble membrana, uniformes y lisas, siendo la externa gruesa y la interna delgada. A los huevos con estas características se los podía observar en cuatro estadios de desarrollo, según Vieira *et al.*, (2006a): gástrula (Figura 3a), mórula (Figura 3b), “tad pole” (Figura 3c) y larvado (Figura 3d). Los datos morfométricos son presentados en la Tabla 1. Por otro lado, también se midieron huevos hallados en interior de hembras adultas de helmintos de la familia Viannaiidae (Figura 3e). Al contar con hembras adultas de esta familia se evidenció una leve diferencia entre los huevos de esta familia con respecto a los de la familia Trichostrongylidae. Sin embargo no resultó posible diferenciar los huevos de las distintas especies dentro de la superfamilia Trichostrongyloidea en las heces, por lo que son referenciadas todas juntas las especies de esta superfamilia en la Tabla 1.

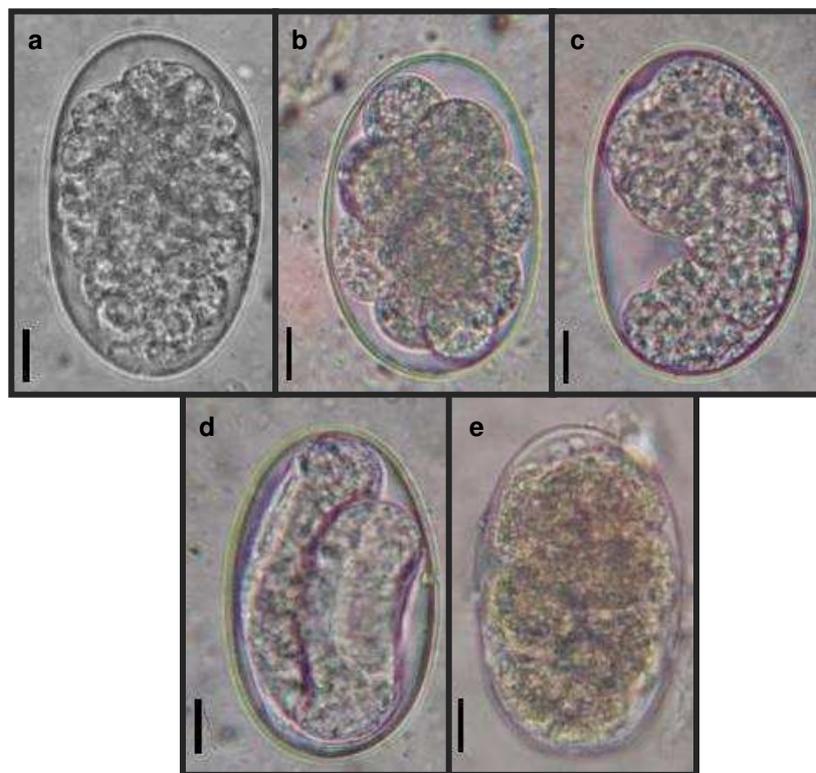


Figura 3. Huevos de parásitos gastrointestinales de *Hydrochoerus hydrochaeris*, de la superfamilia Trichostrongyloidea obtenidos de materia fecal, a - gástrula, b - mórula, c - *tad-pole*, d - larvado; e - huevo hallado en el interior de una hembra adulta de la familia Viannaiidae. Barra = 10 µm

Formas evolutivas	Coproparasitológico		En parásitos adultos		Otros autores	
	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
Huevos						
<i>Trichostrongyloidea</i>	58.08 - 86.63 µm (67.52 ± 4.79; N=462)	29 - 54.94 µm (40.97 ± 3.22; N=462)	60.31 - 70.87 µm (64.61 ± 3.12; N=12)	34.41 - 40.96 µm (36.81 ± 2.55; N=12)	60 - 77.5 µm * (69.15 ± 3.56; N=300) *	32.5 - 43.75 µm * (38.06 ± 2.38; N=300) *
<i>Strongyloides</i> sp	39.11 - 58.59 µm (49.97 ± 2.89; N=218)	23.27 - 39.12 µm (30.67 ± 2.27; N=218)	44.41 - 50.99 µm (48.10 ± 2.88 N=6)	26.89 - 29.53 µm (28.28 ± 1.09; N=6)	45.5 - 57.5 µm * (51.5 ± 3.77; N=55) *	25 - 35 µm * (30 ± 2.31; N=55) *
<i>Trichuris</i> sp	54.85 - 71.01 µm (65.95 ± 3.51; N=26)	31.24 - 37.92 µm (34.77 ± 1.54; N=26)	61.46 - 68.27 µm (64.41 ± 2.85 N=8)	33.25 - 36.68 µm (34.78 ± 1.08; N=8)		
<i>Echinocoleus hydrocheri</i>	40.12 - 53.38 µm (48.65 ± 2.37; N=33)	22.14 - 26.8 µm (24.82 ± 0.96; N=33)	43.13 - 46.48 µm (44.95 ± 1.6; N=4)	22.12 - 23.73 µm (23.12 ± 0.73; N=4)		
Ooquistes						
<i>Eimeria trinidadensis</i>	17.09 - 23.01 µm (20.75 ± 1.5; N=40)	13.82 - 19.92 µm (17.61 ± 1.23; N=40)			19.3 - 24.7 µm (22.2 µm) **	17.3 - 21.0 µm (19.6 µm) **
					18 - 23 µm (20.9 µm)***	16.5 - 21 µm (18.1 µm)***
<i>Eimeria ichiloensis</i>	23.14 - 31.15 µm (26.34 ± 2.48; N=29)	17.61 - 23.87 µm (20.55 ± 1.87; N=29)			22.3 - 33.5 µm (26.2 µm)**	19.9 - 26.6 µm (21.7 µm) **
					23 - 33 µm (26.2 µm)***	18 - 24 µm (21 µm)***
<i>Eimeria boliviensis</i>	28.44 - 40.39 µm (33.99 ± 3.12; N=42)	20.11 - 27.62 µm (24.16 ± 1.91; N=42)			29 - 45 µm (35.9 µm)***	20-30 µm (25.7 µm) ***

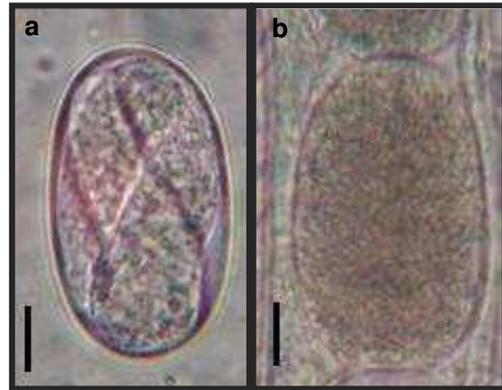
± Desvío estándar.

* Vieira et al., (2006a). ** Albuquerque et al., (2008). *** Casas et al., (1995)

Tabla 1 - Rango, promedio y desvío estándar de las medidas de diferentes formas evolutivas de helmintos gastrointestinales de *Hydrochoerus hydrochaeris*, hallados en materia fecal, en el interior de parásitos adultos y descripciones de otros autores. Modificado de Costa 2010.

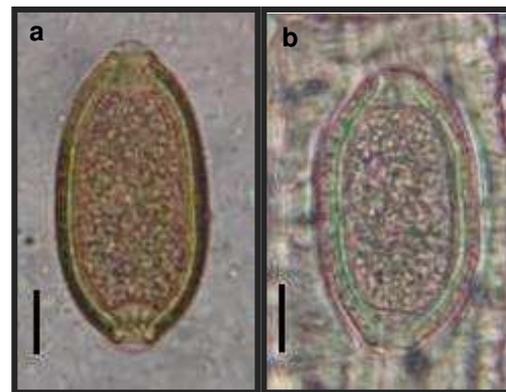
Los huevos de *Strongyloides* cf. *chapini* presentaron forma elipsoidal, extremidades polares simétricas y una membrana delgada y uniforme con la cara externa e interna lisas (Figura 4a). Como los huevos de este género son similares entre sí, resulta difícil asegurar la especie sólo observando las formas evolutivas. Sin embargo, al contar con hembras adultas de *Strongyloides* cf. *chapini* obtenidas de los tractos digestivos de los carpinchos estudiados, se pudo fotografiar huevos en su interior (Figura 4b) y comparar éstos con los encontrados en la materia fecal durante el experimento. Los datos morfométricos son presentados en la Tabla 1.

Figura 4 Huevos de parásitos gastrointestinales de *Hydrochoerus hydrochaeris* de la especie *Strongyloides* cf. *chapini*. a, b - huevos obtenidos de materia fecal; c - huevo hallado en el interior de una hembra adulta de *Strongyloides chapini*. Barra = 10 μ m.



Las formas evolutivas de *E. hydrochoeri* presentaron paredes laterales asimétricas, tapones polares con proyección externa poco marcada y de coloración pardo-anaranjado (Figura 5a). También se fotografiaron huevos de hembras de *E. Hydrochoeri* halladas en los tractos gastrointestinales (Figura 5b). En la Tabla 1 se presentan los datos morfométricos.

Figura 5. Huevos de parásitos gastrointestinales de *Hydrochoerus hydrochaeris* de la especie *Echinocoleus hydrochoeri*. a - huevo obtenido en materia fecal; b - huevo hallado en el interior de una hembra adulta. Barra = 10 μ m.



Los huevos de *Trichuris* sp., presentaron la típica forma de “limón”, de coloración anaranjada, con las paredes laterales simétricas y con los tapones polares proyectándose fuera de los contornos de la membrana (Figura 6a). En la Figura 6b se puede observar un huevo obtenido de una hembra de *Trichuris* sp. Las medidas halladas para los huevos de este género son presentadas en la Tabla 1.

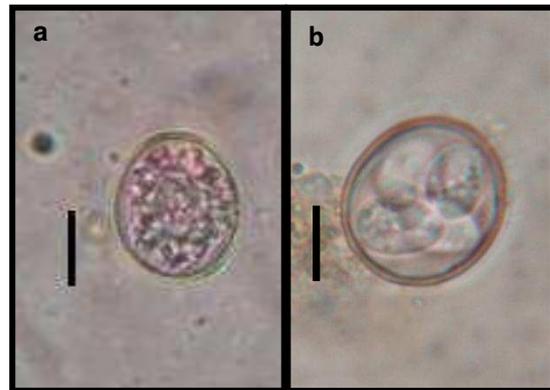
Figura 6. Huevos de parásitos gastrointestinales de *Hydrochoerus hydrochaeris* del generó *Trichuris* sp. a - huevo obtenido de materia fecal; b - huevo hallado en el interior de una hembra adulta. Barra = 10 μ m.



Coccidios

Se hallaron al menos tres diferentes ooquistes de coccidios que, según la fracción esporulada, correspondieron a especies de *Eimeria*. Algunos ooquistes presentaron características muy coincidente con los de *Eimeria trinidadensis*, con forma sub-esferoidal, con una coloración grisácea (Figura 7 y Tabla 1).

Figura 7. Ooquistes de coccidios de *Hydrochoerus hydrochaeris* de la especie *Eimeria trinidadensis*. a - ooquiste obtenido de materia fecal (40 x); b - Ooquiste esporulado (100 x). Barra = 10 μ m.



Otros ooquistes fueron compatibles con los de *Eimeria ichiloensis*, con forma que variaba desde sub-esferoidal a esférica, con una coloración grisácea y la membrana con tonalidad parda (Figura 8 y Tabla 1).

Figura 8. Ooquistes de coccidios de *Hydrochoerus hydrochaeris* de la especie *Eimeria ichiloensis*. a - ooquiste obtenido de materia fecal (40 x); b - Ooquiste esporulado (100 x). Barra = 10 μ m.



El tercer tipo de ooquiste se ajustó con las características de *Eimeria boliviensis*, de forma elipsoidal, con coloración anaranjada y resultando los más grandes de las tres especies observadas (Figura 9 y Tabla 1).

Figura 9. Ooquiste de coccidios de *Hydrochoerus hydrochaeris* de la especie *Eimeria boliviensis* obtenido de materia fecal (40 x). Barra = 10 μ m.



Cestodes

Se hallaron huevos de *Monoecocestus* sp., familia *Anoplocephalidae* (Figura 10). Los mismos son atípicos con formas subtriangulares o subcuadrangulares y en su interior se puede observar el aparato piriforme que contiene el embrión hexacanto.



Figura 10. Huevos del género *Monoecocestus* spp. obtenido de materia fecal (40 x) (a) y directamente de un proglótide (b). Barra = 10 μ m.

Parásitos adultos

Se identificaron en total siete nematodos, al menos tres cestodes y tres trematodes (Tabla 2).

En el estómago de los carpinchos silvestres y del experimento se hallaron adultos de *S. chapini*, *E. hydrochoeri* (Figura 13), individuos de *V. hydrochoeri* e *H. anomalobursata* (las hembras de estas dos especies no se pueden diferenciar bajo lupa pero los machos se identificaron de acuerdo a las diferencias que estos trichostrongilídeos muestran en su bolsa copulatriz; Figura 11 y 12). Además se encontraron ejemplares de la especie *Trichostrongylus* cf. *axei*.

En el intestino delgado se hallaron los siguientes parásitos: *S. chapini*, *E. hydrochoeri*, *V. hydrochoeri*, *H. anomalobursata*, *T. cf. axei* y además ejemplares de los cestodes *Monoecocestus* spp.. Dentro de estos últimos se identificó la especie *M. hydrocheri* y al menos hay dos especies más que están siendo identificadas.

En el ciego se encontraron adultos de los nematodos *P. obesa* y *Truchuris* sp. Adheridos a la mucosa del ciego y en su contenido, se recolectaron ejemplares de trematodes de las especies *Taxorchis schistocotyle* y *Taxorchis cabrali*.

En el resto del intestino grueso se identificaron *P. obesa* y ejemplares del trematodo *Hippocrepis hippocrepis*. Estos trematodes se encontraron comúnmente adheridos a la mucosa del colon (Figura 14).

Especie	Localización
Nematoda	
<i>Vianella hydrochoeri</i>	Estómago, Intestino delgado
<i>Hydrocherisnema anomalobursata</i>	Estómago, Intestino delgado
<i>Strongyloides chapini</i>	Estómago, Intestino delgado
<i>Protozoophaga obesa</i>	Ciego, colon
<i>Echinocoleus hydrochoeri</i>	Estómago, Intestino delgado
<i>Trichostrongylus cf axei</i>	Estómago, Intestino delgado
<i>Trichuris</i> sp	Ciego
Cestoda	
<i>Monoecocestus hydrochoeri</i>	Intestino delgado y ciego
<i>Monoecocestus</i> sp.	Intestino delgado y ciego
Trematoda	
<i>Taxorchis schistocotyle</i>	ciego
<i>Taxorchis cabrali</i>	ciego
<i>Hippocrepis hippocrepsis</i>	Colon y recto

Tabla 2. Helmintos parásitos de carpincho de la región Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina y su localización dentro del tracto gastrointestinal.

Figura 11. Bolsa copultriz de *Hydrocherisnema anomalobursata* (izquierda) y de *Vianella hydrochoeri* (Derecha). Barra = 20 μ m.



Figura 12. Macho de *Vianella hydrochoeri* (izquierda) y hembra de la familia Vianninae (Derecha).

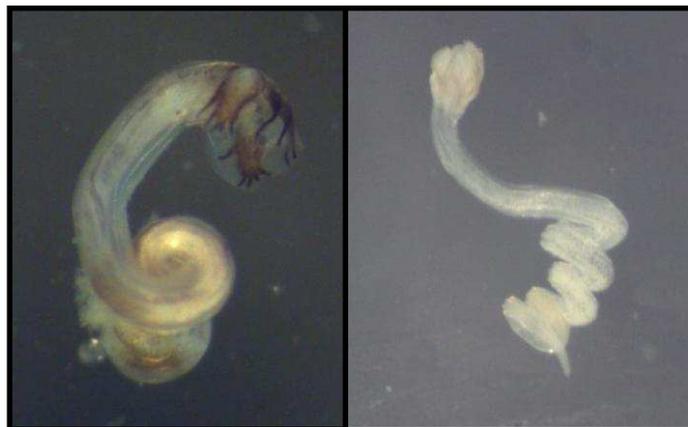


Figura 13. Hembra (izquierda) y macho (Derecha) de *E. hydrochoei*. Barra = 100 μ m.

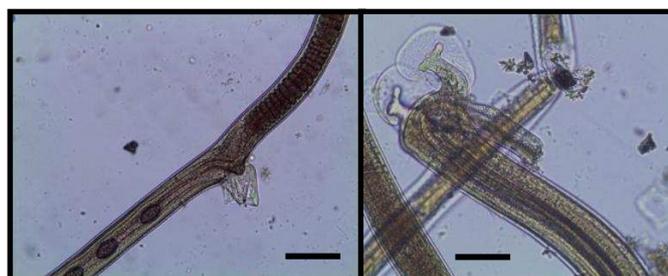
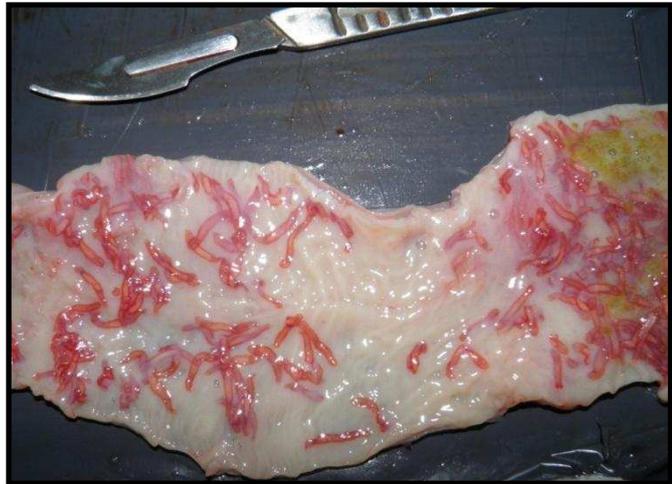


Figura 14. Ejemplares de *Hippocrepis hippocrepis* en intestino grueso de un carpincho silvestre.



Comparación huevos en materia fecal vs. parásitos adultos

Se compararon recuentos de huevos en heces y parásitos adultos provenientes de 53 carpinchos (27 carpinchos del experimento (capítulo 4) y 26 carpinchos silvestres). En la tabla 3 se muestran los valores de las asociaciones entre los parásitos adultos y sus respectivos huevos para cada uno de los taxones analizados y los valores de los coeficientes de correlación. Para los taxones *S. chapini*, superfamilia Trichostrongyloidea y *Trichuris* sp. se reportó una asociación positiva y significativa entre los adultos y el conteo de huevos en las heces. Sin embargo para el caso de la superfamilia Trichostrongyloidea esta relación dependió de la procedencia de las muestras, es decir si los carpinchos eran silvestres o de cautiverio (experimento), en ambos casos la asociación fue

Respuesta= huevos de *Strongyloides chapini*

Término	Coefficientes	Error estándar	Valor de p	Spearman coef.; p	Pearson coef.; p
Intercepto	4.828953	0.371102	<0.001		
Parásitos adultos	0.004222	0.001556	0.007	0.525; p <0.001	0.812; p <0.001

Respuesta= huevos de Trichostrongyloidea

Intercepto	3.000462	0.298786	p <0.001		
Parásitos adultos	0.026620	0.006147	p <0.001		
Parásitos adultos*procedencia	-0.025587	0.006165	p <0.001	0.630; p<0.001 exp 0.27; p=0.1766 silv	0.751; p<0.001 exp 0.475; p=0.014 silv.

Respuesta = *Trichuris* sp.

Intercepto	1.191874	0.075352	p <0.001		
Parásitos adultos	0.289816	0.008927	p <0.001	0.446; p<0.001	0.35; p=0.010

Respuesta = huevos de *Echinocoleus hydrochoeri*

Intercepto	2.493144	0.427993	p <0.001		
Parásitos adultos	0.010493	0.008342	0.208	0.339;p=0.014	0.527;p=0.089

Respuesta = huevos de *Monoecocestus* sp.

Intercepto	-4.4114	1.7067	0.009		
Parásitos adultos	0.2401	0.1294	0.063	0.281;p=0.164	0.341;p=0.087

significativa. No se encontró asociación significativa para los parásitos *E. hydrochoeri* y

Tabla 3. Modelos lineales generalizados con respuesta binomial negativa mostrando la asociación que hay entre los parásitos adultos encontrados en el tracto gastrointestinal de los carpinchos y los huevos contados en las heces.

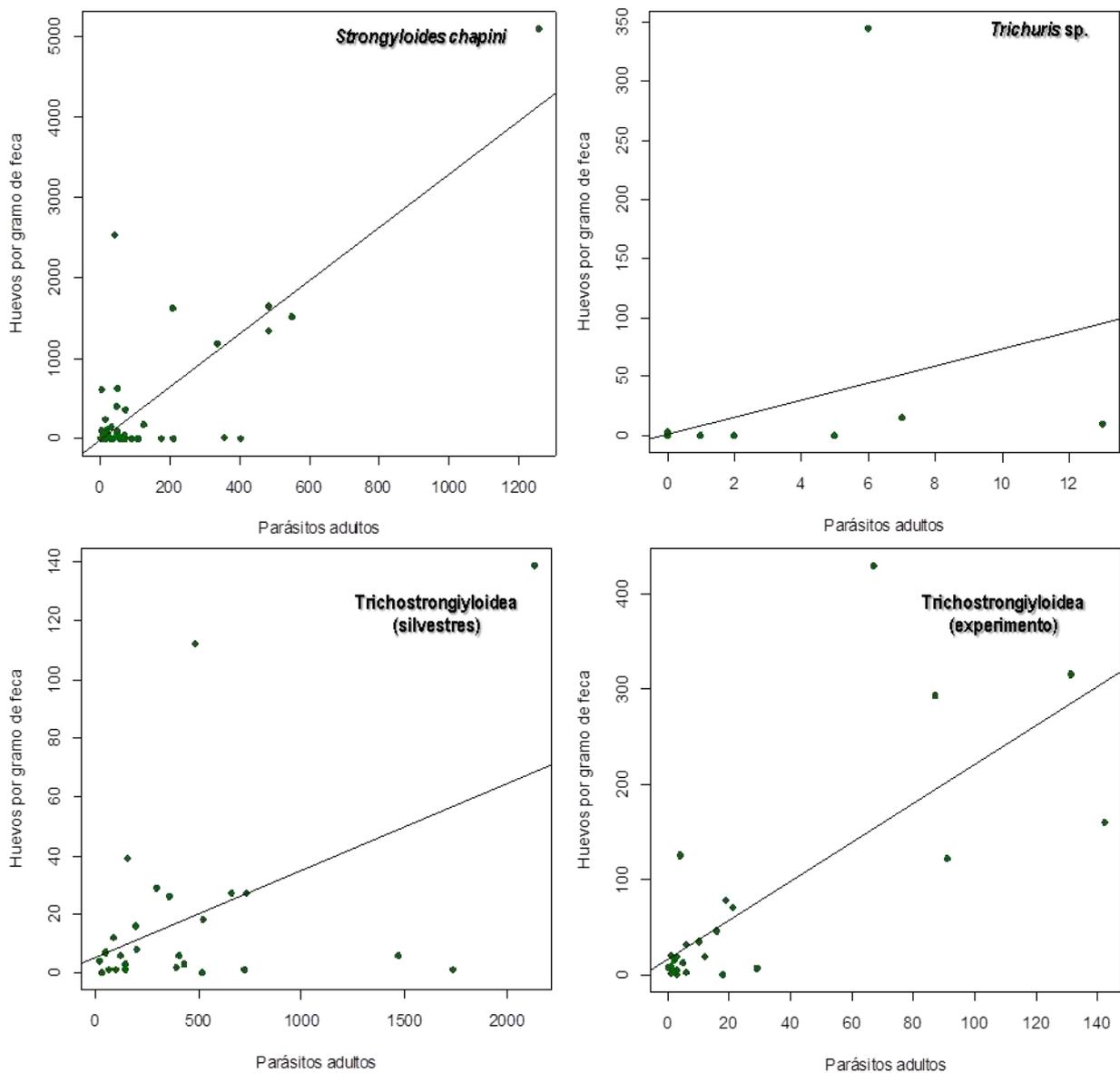


Figura 17. Relación entre conteos de huevos en materia fecal y los parásitos adultos encontrados en los intestinos delgados de los carpinchos estudiados.

Monoecocestus sp. El mismo patrón se observó en los análisis de correlación (Tabla 3 y Figura 17). Los mayores coeficientes de correlación los presentaron los nematodos *S. chapini*, *Trichostrongyloidea* y *Trichuris* sp.

DISCUSIÓN

Los endoparásitos encontrados en los carpinchos silvestres en el área de estudio (Esteros del Iberá) y en los carpinchos del experimento provenientes también de Corrientes (ver cap. 4), son similares a los citados por otros autores para esta zona y para poblaciones de carpinchos de otros países (Casas *et al.*, 1995; Bonuti *et al.*, 2002; Ortiz y Rizzello, 2004; Salas y Herrera 2004, Sarmiento *et al.*, 2005; Gurgel *et al.* 2007; Albuquerque *et al.* 2008; Sinkoc *et al.* 2009; Corriale *et al.* 2011; Corriale *et al.*

2013). Sin embargo se han encontrado diferencias en cuanto al número de especies parásitas y su ubicación dentro del tracto digestivo.

En este estudio, se han identificado siete especies de nematodos, cinco de ellas se recolectaron en el estómago y en el intestino delgado: *V. hydrocheri*, *H. anomalobursata*, *E. hydrocheri*, *S. cf chapini* y *T. cf axei*, a diferencia de Salas y Herrera 2004 en Venezuela y Costa y Catto 1994 en Brasil, que reportan algunas de estas especies sólo en uno de los dos órganos o en ninguno. Mientras que *Trichuris* sp. se encontró sólo en ciego y *P. obesa* en ciego y en colon. De estas siete especies sólo *T. cf axei* no es específica del carpincho y la comparte con el ganado bovino.

En cuanto a los cestodes, para la ecorregión “Lagunas Esteros del Iberá”, es la primera vez que se reportan más de una especie de *Monoecocestus*. En este estudio se identificó la especie *M. hydrochoeri*, otra especie compatible con *M. hagmani* que está siendo confirmada por especialistas y por lo menos una especie más del mismo género que también está siendo identificada. Estas dos especies de *Monoecocestus* son los cestodes más comunes de los carpinchos y han sido encontradas a lo largo de su distribución, tanto en animales de criadero (Allekotte 2003; Sinkoc *et al.* 2004) como en animales silvestres (Casas *et al.* 1995; Bonuti *et al.* 2002; Salas y Herrera 2004). No se han encontrado adultos del género *Moneizia* en ninguno de los 72 tractos digestivos de carpinchos silvestres revisados durante los tres años de muestreo, ni huevos de este género en los análisis coproparasitológicos.

Se identificaron tres especies de tremátodos; *Taxorchis cabrali*, *T. schistocotyle* e *Hippocrepis hippocrepsis*. Es la primera vez que se reportan dos especies del género *Taxorchis* para esta zona. Ambas especies se encontraron sólo en ciego. Mientras que los ejemplares de *H. hippocrepsis* solo se encontraron en el resto del intestino grueso a diferencia de Costa y Catto 1994 que lo han reportado también en ciego.

A partir de la comparación de los huevos encontrados en las heces con los huevos encontrados en las hembras adultas de los parásitos, se pudo corroborar la identificación de las especies o taxones, utilizando los datos aportados por los análisis coproparasitológicos. Es importante destacar que al haberse identificado en los tractos gastrointestinales de los carpinchos silvestres dos especies de la familia Viannaiidae, *V. hydrocheris* y *H. anomalobursata* así como también dos especies de trematodos del género *Taxorchis*: *T. cabrali* y *T. schistocotyle*, esta información debe tenerse en cuenta a la hora de reportar los parásitos de una población de carpinchos utilizando únicamente la identificación de huevos en heces. Estos parásitos (las dos especies de nematodos por un lado y las dos de trematodos por el otro) tienen huevos muy similares y no es posible identificar las especies a través del análisis coproparasitológico, lo cual puede llevar a realizar reportes erróneos de la comunidad parasitaria del carpincho. Lo mismo han reportado Moriena *et al.* 2012 para otros parásitos. Los autores consideran que las tasas de prevalencia de fasciolosis obtenidas en carpinchos por coprología son dudosas por no discriminar el tipo de huevo, ya que morfológicamente son iguales a los de *T. schistocotyle*.

Hasta ahora los trabajos realizados en la zona con carpinchos silvestres, solo nombraban a los ooquistes encontrados como pertenecientes al género *Eimeria*. A partir de las esporulaciones y las mediciones hechas a los ooquistes encontrados en las heces de los carpinchos estudiados, se

podieron identificar al menos tres especies. Una de ellas *E. boliviensis*, que se distingue fácilmente de las demás por su mayor tamaño (Casas *et al.* 1995b) y las otras dos *E. ichiloensis* y *E. trinidadensis* que también fueron reportadas por Albuquerque *et al.* 2008 para el sur de Brasil. Estas tres especies en Argentina sólo fueron reportadas para carpinchos de criaderos (Sarmiento *et al.* 2005 y González *et al.* 2007).

Huevos vs. Adultos

Los conteos de huevos en heces son una herramienta no invasiva utilizada comúnmente para conocer la prevalencia, abundancia e intensidad de los parásitos internos que presenta un hospedador. Según los resultados obtenidos, los conteos de las formas evolutivas en materia fecal son indicativos en niveles aceptables de la carga parasitaria interna para la superfamilia Trichostrongyloidea, *Strongyloides chapini* y *Trichuris* sp. Sin embargo para el caso de la superfamilia Trichostrongyloidea hay que tener en cuenta que en este grupo, se incluyen a tres especies, poco diferenciables teniendo sólo en cuenta las características morfológicas de los huevos. Dos especies específicas del carpinchos *V. hydrocheri* e *H. anomalobursata*, que pertenecen a la familia Viannaiidae y una especie que comparte con el ganado bovino *T. cf. axei*. Para el caso de los demás taxones, *E. hydrochoeri* y *Monoecocestus* spp. no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre los conteos de huevos y los adultos ni niveles de correlación significativos.

Los resultados que se obtuvieron en este trabajo coincidieron con lo reportado por otros autores en otros sistemas hospedador-parásito. Por ejemplo, se han encontrado altas y positivas correlaciones entre hpg y parásitos adultos de otros estrongilidos gastrointestinales en cabras y ovejas (Cabaret *et al.* 1998; Morales *et al.* 1998; Crignoli *et al.* 2008).

La relación entre huevos por gramo y la intensidad de parásitos adultos depende de las características de la comunidad parasitaria (intensidad y riqueza de especies) que están en relación a su vez, con la susceptibilidad a la infección del hospedador. En una infección experimental con *O. circumcincta*, Stear *et al.* (1995), observaron que: i- variaciones en la respuesta local de inmunoglobulina (IgA), regulaban la fecundidad del parásito y ii- variaciones en la reacción local inmediata de hipersensibilidad regulaban la carga parasitaria, y consecuentemente el conteo de huevos. Estos dos mecanismos pueden resultar, cuando actúan independientemente, en situaciones con altas cargas de parásitos adultos asociados con baja fecundidad o baja carga parasitaria pero con alta fecundidad, lo cual terminaría en ambos casos, con similares cargas de huevos en las heces (Cabaret *et al.* 1998). La relación huevos vs. parásitos adultos de la superfamilia Trichostrongyloidea dependió de la procedencia de las muestras. Si bien fue significativa en ambos grupos estudiados, la dependencia y la correlación entre ambas variables fue menor para los carpinchos silvestres. En el caso de los individuos del experimento la intensidad media de la familia Viannaiidae fue de 26.88 parásitos y su prevalencia del 96%, mientras que los carpinchos silvestres analizados tuvieron una prevalencia del 100% y su intensidad media fue de 460.84 parásitos. Para la especie *T. cf. axei*, se reportaron las prevalencias de 44.44% y 38.46 % y las intensidades medias igual a 24.66 y 13.3 parásitos para los individuos del experimento y los silvestres respectivamente. En resumen, comparando los resultados de la superfamilia Trichostrongyloidea, los carpinchos silvestres tuvieron una intensidad de parásitos adultos aproximadamente 15 veces mayor a los del experimento, sin embargo la intensidad media de huevos contados en las heces de ambos grupos fue similar: 73.48 y

65.65 hpg para los del experimento y silvestres respectivamente. Esto podría explicarse a través de la relación inmunidad del hospedador-fecundidad del parásito. En primer lugar, los carpinchos silvestres analizados fueron todos adultos a diferencia de los carpinchos del experimento que fueron juveniles y subadultos, por lo que poseen en general desarrollada una experiencia inmune que podría actuar en la reducción de la fecundidad de los parásitos como ocurre en el primer mecanismo explicado por Stear *et al.* 1995. En segundo lugar los carpinchos del experimento además de ser más pequeños, estuvieron sometidos a distintos tipos de estrés por lo cual es de suponer que la respuesta inmune es diferente y podría afectar menos o no afectar la fecundidad de los parásitos. Para el trichostrongilo *O. circumcincta*, se ha encontrado una fuerte relación entre la disminución del largo del parásito con la disminución de la fecundidad del mismo. La única respuesta inmune que se asocia fuertemente con la reducción de la longitud de este parásito es la respuesta de IgA al cuarto estadio larvario (Stear *et al.* 1999). Por lo tanto, se ha planteado que la resistencia genética en ovejas parece ser debido a un control de crecimiento y no a un control del número de parásitos (Stear *et al.* 1999). Si bien en este estudio no se midieron estas variables, en los carpinchos silvestres se obtuvieron mayores niveles de intensidad de adultos pero iguales conteos de huevos promedios en las heces que los carpinchos del experimento, lo cual lleva a suponer que podría estar sucediendo en el carpincho algo semejante a lo encontrado para la interacción *O. circumcincta*-oveja.

Otra posible explicación para estos resultados podría ser el efecto densodependiente de la fecundidad del parásito. A altas densidades de parásitos también se ve limitado el crecimiento y la fecundidad de las hembras debido a la competencia intraespecífica, lo cual ha sido reportado por otros autores (Christensen *et al.* 1995; Roepstorff *et al.* 1996 y Sithithaworn *et al.* 1991).

Para otras especies de cestodes como es el caso de *Anoplocephala perfoliata* en caballos, no se han encontrado o se han reportado correlaciones bajas a moderadas entre el conteo de huevos en heces y los parásitos adultos de cestodes (Proudman y Edwards 1992; Nilsson *et al.* 1995; Williamson *et al.* 1998). Es aceptable que los huevos de los cestodes no se distribuyen por igual en las heces posiblemente porque los huevos son eliminados en las proglótides grávidas que se desprenden de la tenia (Nilsson *et al.*, 1995). Esto ha conducido a la modificación de métodos para el recuento de huevos de *A. perfoliata* mediante el uso de una mayor cantidad de materia fecal, entre 30-40 g (Proudman y Edwards 1992). Además la sensibilidad de la técnica se ha mejorado cuando el punto de corte para la relación huevos-adultos ha sido igual o mayor a 20 gusanos (Proudman y Edwards 1992; Kjaer *et al.* 2007). En este estudio el 53.8 % de los carpinchos silvestres (14 carpinchos) tuvieron en su intestino delgado ejemplares de *Monoecocetus* spp., cuya intensidad vario entre 1 y 17 parásitos. De los 14 carpinchos positivos, 10 de ellos tuvieron cargas menores a 10 ejemplares de cestodes. Por lo tanto, tanto la forma de eliminación de huevos que poseen estas especies como la baja carga de parásitos, podrían explicar porque en este estudio no se ha encontrado una correlación significativa entre el conteo de huevos y los parásitos adultos del género *Monoecocetus* del intestino delgado.

El número de huevos encontrados en heces no solo depende del número de hembras en el interior de hospedador sino también de características propias de cada especie parásita, como es el índice de prolificidad. No todos los géneros de nematodos gastrointestinales tienen el mismo potencial biótico, hay parásitos que eliminan mayor número de huevos que otros. Por ejemplo Según Borchert (1975), las hembras de *Haemonchus* eliminan diariamente entre 5000 y 8000 huevos mientras que las del género *Trichostrongylus* de 100 a 200 huevos por día. Se sabe que especies de la misma superfamilia

que *Echinocoleus hydrochoeri* poseen fecundidad baja (Perez Tort y Welch 1998). Si bien no se sabe cuál es el potencial biótico de esta especie, se podría suponer que al tener una baja fecundidad podría influir en la cantidad de huevos encontrados en las heces y por lo tanto se podría explicar la no asociación positiva entre huevos y adultos encontrada en este trabajo.

CONCLUSIONES

Son necesarios numerosos estudios para poder determinar cuál es la comunidad parasitaria de un hospedador silvestre. Sin embargo, a partir de los resultados obtenidos en este estudio se pudieron identificar en el tracto gastrointestinal del carpincho 7 especies de nematodos, 3 de trematodos, al menos 3 especies de cestodos y 3 de coccidios. Varias de estas especies es la primera vez que se reportan para la ecoregión de los Esteros del Iberá, que es la región de Argentina con mayor densidad de carpinchos.

La identificación de los parásitos internos de un hospedador a través del examen de sus heces es una técnica muy utilizada tanto en animales domésticos como en silvestres, por su bajo costo y por no ser invasiva (Stringer *et al.* 2014). Para ello es necesario conocer y poder identificar los huevos que pertenecen a cada una de las especies de parásitos de un determinado hospedador. Al poder obtener huevos provenientes directamente del interior de las hembras grávidas de parásitos durante este estudio, se pudo realizar una comparación de dichos huevos con las formas evolutivas encontradas en las heces de los carpinchos. Por lo tanto, se pudo corroborar las especies o taxones a los cuales pertenece cada tipo de huevo y además determinar cuáles son las especies parásitas que pueden identificarse utilizando únicamente los huevos en las heces y cuáles necesitan del ejemplar adulto para comprobar su presencia en el hospedador. Este es el caso por ejemplo las tres especies de la superfamilia Trichostrongyloidea (*V. hydrochoeri*, *H. anomalobursata* y *T. cf. axei*), que solo pueden identificarse a partir de los adultos y no sólo a través de los huevos que se encuentran en las heces. A diferencia de los anteriores, *Trichuris* sp., *E. hydrochaeri*, *P. obesa*, *S. cf. chapini*, y *Monoecocestus* sp. pueden ser identificados a través de sus huevos en heces.

Se encontró una asociación positiva para la relación hpg-carga parasitaria de Trichostrongyloidea, *Strongyloides chapini* y *Trichuris* sp. no así para las especies del género *Monoecocestus* y para *E. hydrochaeri*. Esta información resultará útil para el estudio y monitoreo de los parásitos de las poblaciones de carpinchos tanto silvestres como en cautiverio.

PARTE 2. DINÁMICAS PARASITARIAS DE POBLACIONES SILVESTRES DE CARPINCHOS. FACTORES DETERMINANTES

En la actualidad, es ampliamente reconocido que los parásitos juegan un papel muy importante en la dinámica poblacional de animales silvestres (Hudson *et al.*, 1998; Tompkins & Begon, 1999; Pedersen & Greives, 2008). Por lo tanto, al ser los parásitos tanto causa como consecuencia del estado de salud del hospedador (Blanchet *et al.*, 2009; Beldoménico & Begon, 2010), es importante conocer las dinámicas del parasitismo, como indicativo de la dinámica de salud de los hospedadores y determinantes de las dinámicas poblacionales.

Los parásitos deben afrontar dos ambientes totalmente distintos, las condiciones ambientales externas por un lado y por el otro el ambiente dentro del hospedador. Las condiciones externas influyen principalmente sobre los parámetros de la historia natural del parásito, como ser los estadios fuera del hospedador, supervivencia de la larva o huevo. Por otra parte el ambiente interno del hospedador tiene una influencia dual sobre la condición fisiológica del parásito, por un lado debe adaptarse a otras condiciones ambientales que se dan dentro del hospedador (ph, temperatura, presencia de otros parásitos, etc.) totalmente distintas a las del ambiente externo y por otro, toda la estructura inmune que genera el hospedador frente a la invasión del parásito (Tinsley y Chappell 1999).

Variaciones estacionales de temperatura, precipitaciones y humedad afectan tanto la abundancia de vectores o de hospedadores intermediarios como así también los distintos estadios del parásito en el ambiente (Altizier *et al.* 2006). En algunas regiones, las variaciones estacionales de la temperatura limita la abundancia de mosquitos, garrapatas y otros vectores artrópodos que pueden morir, frenar su desarrollo o volverse menos activos bajo temperaturas invernales (ejemplo Roger y Randolph 1988). Por ejemplo, inviernos más largos y temperaturas más frías pueden reducir el número de ninfas presentes en el ambiente que transmiten el virus de la enfermedad de Lyme y otras infecciones transmitidas por garrapatas durante los meses de verano y otoño (Ogden *et al.* 2006).

Para muchos parásitos intestinales, los estadios infecciosos liberados al medio ambiente son vulnerables a la variación de la temperatura, las precipitaciones y la humedad antes de que encuentren nuevos hospedadores (por ejemplo Waller *et al.* 2004; Cattadori *et al.* 2005). Para los parásitos que depositan sus huevos en las heces, la temperatura puede influir en las tasas de desarrollo del parásito y la supervivencia de los estadios externos. A pesar de solo influir en estos estadios externos, las fluctuaciones de la temperatura son suficientes para ejercer un control poderoso sobre las dinámicas poblacionales parasitarias. Para el desarrollo de los estadios larvales, primero la temperatura debe ser superior a un umbral crítico, y luego las tasas de desarrollo del parásito aumentan aún más con la temperatura por encima de este umbral. La inhibición de transmisión inducida por la temperatura puede darse a temperaturas de 10°C por ejemplo, en diversos grupos de helmintos como ser nematodos, monogenos y digeneos (Tinsley y Chappañ 1999). La humedad también es de vital importancia para el desarrollo, la supervivencia y los movimientos de las larvas de helmintos. Las condiciones secas pueden limitar la transmisión y produce que las larvas migren hacia el suelo, aunque el exceso de precipitaciones puede lavar huevos y estadios infecciosos (Stromberg 1997).

Estos cambios estacionales pueden alterar la tasa de transmisión de los parásitos a través de efectos sobre las tasas de encuentro entre hospedador y etapas infecciosas o cambiando las abundancia y tasas de desintegración general de los parásitos en el ambiente (por ejemplo, Roberts y Grenfell 1992).

Por otra parte, cambios en la densidad del hospedador también pueden influir en la abundancia y transmisión de los parásitos. Si la transmisión del parásito es directa y se asume que a mayor densidad del hospedador se aumentan los contactos entre individuos, se espera entonces que a mayores densidades del hospedador haya mayores cargas de parásitos. Por otro lado, el aumento de la densidad de los hospedadores puede ir de la mano de una condición empobrecida del hospedador debido a la competencia intraespecífica por los recursos (Beldomenico y Begon 2010) lo que repercute en la susceptibilidad y la intensidad de la infección (Beldomenico *et al.* 2009).

Variaciones estacionales de temperaturas, precipitaciones y densidad del hospedador pueden ejercer una fuerte presión en las dinámicas poblacionales parasitarias, por lo que la estacionalidad puede impactar en la interacción parásito-hospedador, incluyendo variaciones en los encuentros entre los hospedadores y los estadíos infectantes así como también el desarrollo, maduración y transmisión de los distintos estadíos de los parásitos. Por lo tanto es importante conocer cuáles de estos factores están principalmente asociados a las dinámicas poblacionales de cada uno de los parásitos que conforman la comunidad parasitaria del carpincho.

Asociaciones parasitarias inter-específicas

Los vertebrados silvestres son hospedadores de una gran comunidad parasitaria y la mayoría de las veces cada hospedador esta parasitado por más de un parásito (Cox 2001). La intensidad del parasitismo gastrointestinal en animales silvestres ha sido tradicionalmente atribuida a variables del hospedador, del ambiente y de la especie parasitaria en estudio. Sin embargo, al hacer foco en una sola especie, ha sido poco considerada la alta probabilidad de infección simultánea de los hospedadores con más de una especie parasitaria (Telfer *et al.*, 2010).

Dentro del hospedador los parásitos pueden interactuar de diferentes maneras (Lafferty 2010). Los individuos de diferentes especies de parásitos pueden competir, reduciendo la abundancia, fecundidad, crecimiento e incluso la supervivencia de una o ambas especies, o pueden actuar sinérgicamente, favoreciendo la co-infección. Puede haber interacciones interespecíficas antagónicas, como resultado de la competición (explotación de recursos y/o interferencia) y de una respuesta inmune cruzada (Graham, 2008; Mideo 2009; Ulrich and Schmid-Hempel 2012) o interacciones sinérgicas donde la infección de un parásito se ve facilitada por la infección de otro parásito, ya sea por un empobrecimiento general de las defensas del hospedador (Beldomenico and Begon 2010; Ulrich and Schmid-Hempel 2012), inmunosupresión selectiva inducida por los parásitos (Pedersen and Fenton, 2006), o por un mecanismo de autorregulación dentro del sistema inmune (Ezenwa and Jolles 2011; Jolles *et al.* 2008; Pathak *et al.* 2012).

Estas interacciones entre parásitos pueden ser más importantes para las dinámicas parasitarias que lo que se ha considerado hasta el momento. En un sistema de roedor-microparásitos, las interacciones parasitarias dentro del hospedador mostraron ser uno de los principales determinantes del riesgo de infección (Telfer *et al.* 2010). Las interacciones antagónicas dentro de la comunidad de

microparásitos estudiada, explicaron mayor variación en el riesgo de infección que los efectos asociados con el hospedador y los factores ambientales, factores más comúnmente considerados en los estudios de enfermedades (Telfer *et al.* 2010).

En los últimos tiempos se ha concedido mayor importancia a los mecanismos inmunológicos en la dinámica de las comunidades parasitarias (Cox 2001, Graham 2007). La respuesta inmune adaptativa de los mamíferos moviliza procesos diferentes para controlar parásitos intra y extracelulares. Parásitos disímiles pueden provocar diferentes respuestas inmunes, lo que a su vez podría resultar en un posibles trade-off inmunológico. La respuesta típica a parásitos intracelulares (virus, bacterias y protozoos) involucra a los linfocitos T helper tipo 1 (Th1), mientras que la defensa ante parásitos extracelulares (helminths) está mediada principalmente por linfocitos T helper tipo 2 (Th2). Las citoquinas liberadas por los Th1 inhiben la respuesta Th2 y viceversa (Abbas *et al.*, 1996; Yazdanbakhsh *et al.*, 2002). La dicotomía Th1/Th2 se refleja en las distintas rutas efectoras inducidas por una variedad de citoquinas. La función efectora Th1 ha sido tradicionalmente asociada a la activación de macrófagos mediante interferón γ (IFN- γ) para la destrucción de patógenos intracelulares, a la vez que la función efectora Th2 implica la liberación de cantidades significativas de Interleuquina-4 (IL-4), IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 y la consecuente producción de Inmunoglobulina E (IgE) y la respuesta de células granulocíticas como eosinófilos, mastocitos y basófilos, los cuales regulan la citotoxicidad mediada por células y dependiente de anticuerpos, cuya finalidad es eliminar patógenos extracelulares (Maizels *et al.*, 2004). El IFN- γ es un inhibidor de la proliferación de linfocitos Th2, y a su vez la IL-10 previene el desarrollo de células Th1 (Larner *et al.*, 1993; Dickensheets and Donnelly, 1997). Dawson *et al.* (2005) inocularon experimentalmente cerdos con dos especies parasitarias clínica y económicamente importantes: *Toxoplasma gondii* y *Ascaris suum*, y evaluaron la expresión de citoquinas. Los resultados mostraron claramente una respuesta de tipo Th1 ante la infección por *T. gondii* y una respuesta Th2 ante *A. suum*. De manera análoga, un experimento con ratones coinfectados con *Fasciola hepatica* y *Toxoplasma gondii* demostró que la producción de citoquinas Th2 helminto-específicas como IL-4 e IL-5, fue suprimida por la infección con el protozoo (Miller *et al.*, 2009). El antagonismo recíproco de las respuestas Th1 y Th2 sugiere que el parasitismo por helmintos podría intensificar la enfermedad donde domina una respuesta de tipo 1 dada por la infección con parásitos intracelulares, y viceversa.

Existen pocos estudios que contemplan la influencia de las interacciones entre distintas especies de parásitos en la composición de las comunidades parasitarias de poblaciones silvestres. Por ejemplo en un estudio con búfalos Africanos, la infección por *Mycobacterium bovis* (la cual provoca una respuesta Th1) aumentó el impacto de los nematodos gastrointestinales (los cuales inducen una respuesta Th2) (Jolles *et al.* 2008). Similarmente, un estudio reciente con conejos mostró que infecciones nasales con *Bordetella bronchiseptica* aumentaba consistentemente las infecciones de helmintos gastrointestinales (Pathak *et al.* 2012). Por este mecanismo inmune de autorregulación entre los perfiles Th1 y Th2, parásitos que inducen una respuesta inmune de un tipo particular pueden facilitar la infección por parásitos diferentes que son controlados por otros compartimentos del sistema inmune. Sin embargo, la reciente evidencia experimental en ratones silvestres mostró que el tratamiento antihelmíntico efectivo contra nematodos y ectoparásitos aumento el establecimiento de coccidios y de cestodos (Pedersen y Antonovics 2013) y aumentó temporalmente la intensidad de la infección por coccidios (Knowles *et al.* 2013), lo que sugiere una interacción antagónica entre los nematodos y otros grupos de parásitos.

Por otra parte, es esperado que interacciones antagónicas causadas por competencia o por un efecto de inmunidad cruzada, se den entre parásitos que están filogenéticamente relacionados o que ocupan el mismo nicho dentro del hospedador (Mideo 2009). Sin embargo, una hipótesis emergente es que mediante los mecanismos descritos arriba, la infección dada por un parásito puede disminuir el riesgo de infección por otro parásito que esté relacionado con éste (Nfon *et al.* 2012), mientras que aumentaría la infección producida por un parásito perteneciente a otro grupo (Jolles *et al.* 2008; Pathak *et al.* 2012). Un estudio basado en el paradigma inmunológico Th1-Th2 sobre co-infección con nemátodos *T. retortaeformis* y virus de mixoma en conejos silvestres demostró que la infección con virus del mixoma contribuiría a alterar la susceptibilidad de los hospedadores a los nemátodos (Cattadori *et al.* 2007). Por otra parte, Ferrari *et al.* (2009) estudiaron dos especies parásitas comunes del ratón leonado (*Apodemus flavicollis*): el nematode gastrointestinal *Heligmosomoides polygyrus* y la garrapata *Ixodes ricinus*, y evidenciaron que cambios en la infestación por *I. ricinus* están asociados negativamente a cambios en la abundancia de *H. polygyrus*.

No obstante, la relación entre un parásito en particular y cada compartimento del sistema inmune podría estar influida por el contexto ambiental que rodea al hospedador. En el estudio experimental con carpinchos (capítulo 4) en el cual se evaluó el efecto de dos tipos de estrés crónico (restricción nutricional y manipulación física) sobre la intensidad de infección de nematodos y coccidios específicos, se encontró un efecto positivo del estrés prolongado en algunos componentes del sistema inmune (ambos tipos de estrés elevaron los niveles de eosinófilos, relacionados a la respuesta Th2) y el efecto neto resultante sobre los parásitos gastrointestinal fue una mayor infección por coccidios, pero inferiores cargas de helmintos en los carpinchos estresados comparados con los no estresados. Lo que sugiere que, al menos para los carpinchos, la interacción parásito-sistema inmune depende del contexto al cual está expuesto el hospedador (Eberhardt *et al.* 2013). En concordancia con estos resultados, Jolles *et al.* (2008) encontraron una correlación negativa significativa entre la actividad inmunológica Th1 y Th2 en búfalos TB-negativos capturados en la estación seca y no en la estación lluviosa.

En resumen, los distintos tipos de asociaciones inter-específicas entre parásitos pueden jugar un rol importante en la determinación de la estructura de sus infracomunidades y de las comunidades componentes. La distribución de los parásitos se está incrementando y desplazando a una tasa sin precedentes, como resultado del cambio climático, la pérdida de biodiversidad, el cambio en el uso de la tierra y los impactos ambientales de la economía globalizada actual. Conocer cómo las asociaciones contribuyen a las dinámicas de salud de las poblaciones silvestres puede ser importante para incrementar el conocimiento sobre los procesos de salud/enfermedad en sistemas no intervenidos, desarrollar medidas de control o prevención de enfermedades, implementar programas adecuados de conservación de especies e idear programas de monitoreo de la salud de especies y ecosistemas y mitigar los efectos de enfermedades emergentes. Volviendo al ejemplo de los búfalos africanos, es posible que las medidas para reducir la exposición a helmintos sea efectiva para limitar la difusión de la tuberculosis bovina, enfermedad exótica y emergente del África sub-Sahariana (Michel *et al.*, 2006; Jolles *et al.*, 2008).

Por todo lo expuesto, se deduce que es necesario contemplar todos los factores que influyen sobre el efecto de los parásitos en las poblaciones silvestres. Deben tenerse en cuenta los efectos sobre la fecundidad y mortalidad del hospedador, la naturaleza de la relación entre la abundancia parasitaria y

la disminución en la fecundidad y supervivencia parasitarias, la naturaleza de la distribución de los parásitos en la población hospedadora (Irvine, 2006), y no ignorar ni relegar las asociaciones parasitarias inter-específicas que posiblemente forjen la estructura de la comunidad parasitaria.

Objetivos

- Describir las dinámicas parasitarias de poblaciones silvestres de carpinchos y su relación con variables climáticas (precipitaciones y temperaturas) y con la densidad poblacional.
- Evaluar la presencia de asociaciones entre coccidios y nemátodos gastrointestinales como evidencia de interacción inter-específica en las comunidades parasitarias de carpinchos silvestres.
- Identificar y analizar variables factibles de producir un efecto de enmascaramiento en las asociaciones parasitarias inter-específicas (sexo, largo del cuerpo y condición corporal del hospedador, estación y año).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras

Para el cálculo de la prevalencia, intensidad media, abundancia media y para la relación entre cargas parasitarias a través del tiempo y variables ambientales y densidad de carpinchos, se utilizaron las muestras fecales de poblaciones de carpinchos silvestres provenientes de dos sitios de muestreo: 1) Estancia Rincón del Socorro (reserva privada), Mercedes, Corrientes, que se encuentra dentro de la reserva Iberá (28° 39' 20.664"S; 57° 25' 49.8354"O) y 2) Estancia Santa Bárbara, Santa Rosa, Corrientes, (28° 36' 10.44"S; 58° 24' 7.524"O) (ver figura 1, parte 1 de éste capítulo). Ambas áreas se encuentran a 90 km de distancia en línea recta una de otra. Entre noviembre del 2010 y diciembre de 2011 el muestreo se realizó mensualmente. A partir de febrero de 2012 y hasta julio de 2013 se continuó con dichos muestreos bimensualmente. En cada sitio se muestrearon dos cuerpos de agua. En cada cuerpo de agua, se recorrieron dos transectas paralelas a la línea de costa de 300 metros cada una separadas entre sí por 200 metros (aproximadamente un 10 % del total del perímetro). Para el estudio de las variaciones a lo largo del año de la carga de determinados parásitos gastrointestinales, en cada cuerpo de agua se recolectaron 20 heces frescas (un total de 40 heces por sitio), cuando era posible se recolectaban inmediatamente después de su deposición. Además se recolectó información de variables climáticas: precipitaciones y temperaturas y densidad relativa de carpinchos. Ambos sitios de muestreo se seleccionaron teniendo en cuenta su semejanza en cuerpos de agua, densidad de carpinchos y características ambientales.

Para evaluar las asociaciones *inter-específicas parasitarias* se utilizaron sólo las muestras provenientes de la estancia "Rincón del Socorro" (28°36'S 57°49'W), debido que solo en este sitio se contaba con los dos tipos de muestras fecales: i. muestras fecales del recto de individuos (muestras rectales, desde ahora en adelante), y ii. muestras frescas recogidas del campo (muestras de campo, desde ahora en adelante). Las muestras rectales tuvieron información detallada asociada al hospedador, como ser sexo, tamaño y condición corporal, que permitió controlar por características del hospedador en el análisis. Las muestras rectales de carpinchos se colectaron del recto de carpinchos que fueron sacrificados en la estancia Rincón del Socorro, Corrientes, cada mes durante

un período de dos años (Agosto 2010-Septiembre 2012; 3 por mes; n=68), en el marco de un proyecto de investigación (para más detalles ver capítulo 2).

Las muestras de campo correspondieron a la colecta sistemática de heces desde noviembre de 2010 a julio de 2012 (n=1301) en las transectas establecidas a la largo de cuerpos de agua en la zona de estudio.

Variables ambientales

Los valores de precipitaciones mensuales utilizados en el análisis se obtuvieron de la estación meteorológica Paraje Uguai, Colonia Pellegrini, perteneciente a la RED IBERÁ (empresa EVARSA) y los valores pluviométricos fueron brindados por el Parque Nacional Mburucuyá, Estación Santa Teresa.

Las temperaturas promedio máximas, mínimas y medias fueron otorgadas por Juan Ramón Fernández, I.N.T.A. - E.E.A. Mercedes, Corrientes y por I.N.T.A de Bella Vista, Corrientes.

Densidad de carpinchos

Para estimar la densidad relativa se utilizó un método indirecto que considera como indicador, la frecuencia de observación de heces frescas que se encuentran a lo largo de orillas de lagunas u otros cuerpos de agua (Mainardes Pinto 2003, Bolkovic *et al.* 2003, Bolkovic *et al.* 2004). Para dicho parámetro se utilizó el modelo de Eberhard y Van Etten (1956) modificado, donde se tiene en cuenta la tasa de defecación y la densidad de heces frescas encontradas en el área muestreada a lo largo de la línea de costa (López Téllez *et al.* 2007). La tasa de defecación del carpincho utilizada fue igual a 4.4 fecas por día (Bolkovic *et al.* 2003).

Análisis parasitológicos

Los conteos fecales (huevos de nematode por gramo de materia fecal, HPG; y ooquistes de coccidios por gramo de materia fecal, OPG) se estimaron usando la técnica cuali-cuantitativa de flotación en solución sobresaturada de azúcar de Wisconsin modificada (Cox and Todd 1962).

Entre los nematodes gastrointestinales dominantes de carpinchos se encuentran los Viannaiidae *Hydrochoerisnema anomalobursata* y *Viannella hydrochoeri*. En relación a los coccidios, los carpinchos hospedan al menos a 6 especies de *Eimeria*, *E. hydrochoeri*, *E. trinidadensis*, *E. ichiloensis*, *E. boliviensis*, *E. capibarae*, y *E. araside* (Albuquerque *et al.* 2008), de los que *E. boliviensis* puede ser fácilmente distinguido del resto debido a sus características morfológicas. Por lo tanto, los nematodes utilizados para el estudio de las asociaciones interespecíficas parasitarias fueron sólo las especies dominantes encontradas, a saber *Hydrochoerisnema anomalobursata* y *Viannella hydrochoeri* (Fam. Viannaiidae) (los HPG de estos incluyen a ambas especies, ya que sus huevos son indistinguibles). Se sabe además que otro parásito con huevos semejantes es *T. axei* sin embargo sus intensidades son muy bajas comparada con la familia Viannaiidae, por lo que no se tuvo en cuenta en este análisis). Además, los ooquistes de coccidios se clasificaron en dos grupos: la especie de *Eimeria* fácilmente distinguible (*E. boliviensis*) que formó un grupo, y los ooquistes del resto de las especies de *Eimeria* fueron considerados en otro grupo.

Prevalencia, intensidad media y abundancia media

Se obtuvieron los valores de prevalencia, intensidad media y abundancia media de cada uno de los taxones encontrados en las muestras fecales para cada una de las campañas realizadas en los dos sitios muestreados.

- 🐾 **Prevalencia:** número de hospedadores parasitados sobre el número total de hospedadores examinados por 100.
- 🐾 **Intensidad media:** número promedio de parásitos de una especie dada, en una muestra de hospedadores parasitados.
- 🐾 **Abundancia media:** número promedio de parásitos de una especie dada en la muestra de hospedadores examinados (parasitados y no parasitados).

Estimación del tamaño de los individuos

Como la carga parasitaria de un individuo puede depender no solo de las variables ambientales y de la densidad del hospedador sino también de su edad, en el orden de estimar la edad de los individuos a los cuales pertenece cada feca analizada, se utilizó la relación que existe entre el largo total (LT) del carpincho y el ancho de la feca y/o pellet de dicho individuo.

Una de las medidas que se utiliza para estimar el tamaño de los carpinchos es el LT (Ojasti 2011) por estar correlacionado con el peso y la edad. Debido a que el LT es mejor estimador que el peso, ya que este puede depender no solo de la edad sino también de la condición del individuo y de los recursos existentes, se decidió estimar el LT de los carpinchos a los cuales pertenece cada feca estudiada, para utilizarlo como factor controlador en los análisis estadísticos.

Se sabe por estudios anteriores que existen variaciones individuales en la morfología de las heces de carpinchos (Figura 1) y que un individuo mantiene la forma de sus heces a través del tiempo (Bolkovic *et al.* 2003; Bolkovic *et al.* 2010). Además se conoce que los tamaños individuales de las heces pueden indicar rangos de tamaños de los carpinchos (Bolkovic *et al.* 2010; Ojasti 2011).



Figura 1. Tipos básicos de formas de heces de carpinchos (extraído de Bolkovic *et al.* 2010). Las heces se clasifican según su grado de aglutinamiento y forma de pellet en 5 tipos básicos: tipos I, II y III son "heces aglutinadas" y Tipos IV y V son "heces sueltas".

Se utilizaron los datos provenientes de 64 carpinchos. Los mismos fueron pesados y se les midió el LT. Además se registró el tipo de morfología de sus heces y el largo y ancho de las mismas (37 carpinchos pertenecientes al trabajo de Bolkovic *et al.* 2010 y 27 del experimento realizado durante esta tesis, capítulo 4).

Como primer paso se realizaron regresiones lineales con el programa estadístico R para estimar cuanta variabilidad del LT se ve reflejado por la medida del ancho de la feca (si es una aglutinada) o por la medida del ancho del pellet (si es una hece suelta) (Figura 2). Se obtuvo que para las heces aglutinadas, el 80 % de la variabilidad en el LT de la muestra está reflejado por el ancho de feca ($p < 0.001$), y para las heces sueltas, el 77% de la variabilidad en el LT está reflejado por el ancho del

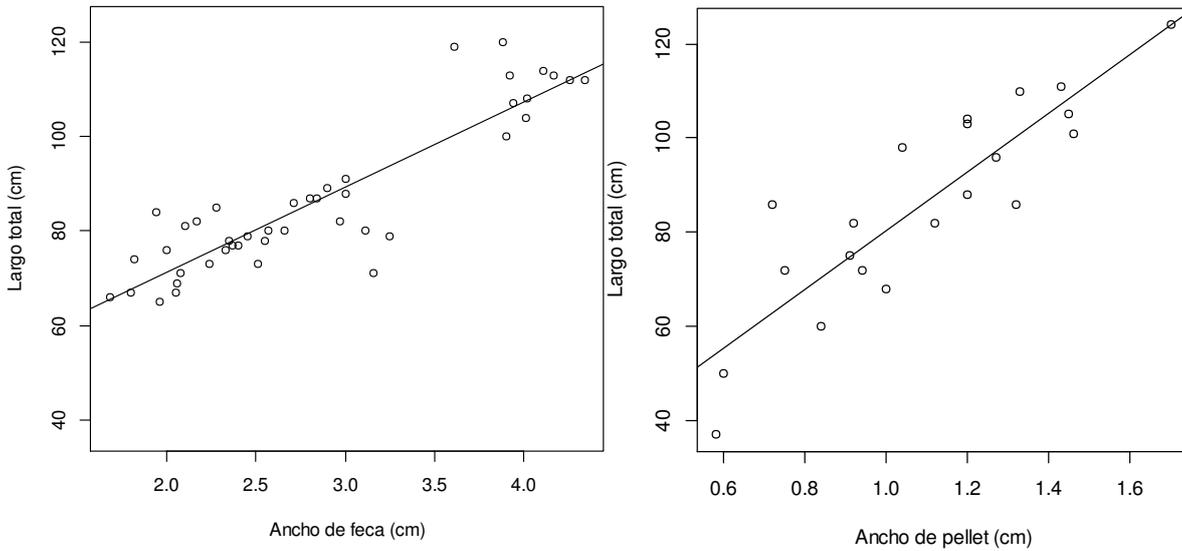


Figura 2. Relación entre largo total y ancho de la feca (a) y largo total y ancho del pellet (b).

pellet ($p < 0.001$). A partir de estos resultados, se utilizaron dos variables para aproximar el LT de los carpinchos, el tipo de las heces (si era aglutinada se las llamó feca y si era suelta pellet) y el valor del ancho (de la feca o del pellet según correspondiera). La relación obtenida reflejó el 80 % de la variabilidad en el LT ($p < 0.001$) y estima que cuando el tipo de hece es feca, por cada centímetro de incremento en el ancho, el LT del carpincho aumenta 18 cm. y cuando es pellet, por cada centímetro de incremento en el ancho del mismo, el LT aumenta 62.4 cm.

Con estos datos se generó la variable “LT estimado” (LT_e), la cual es igual a:

- 🐭 LT_e = 35.11+(ancho*18.076)+(1*-17.32)+(1*ancho*44.4331) si es a partir de un pellet
- 🐭 LT_e = 35.11+(ancho*18.076), si es a partir de una feca.

Una vez obtenidos los datos estimados se relacionaron con los datos observados (Figura 3).

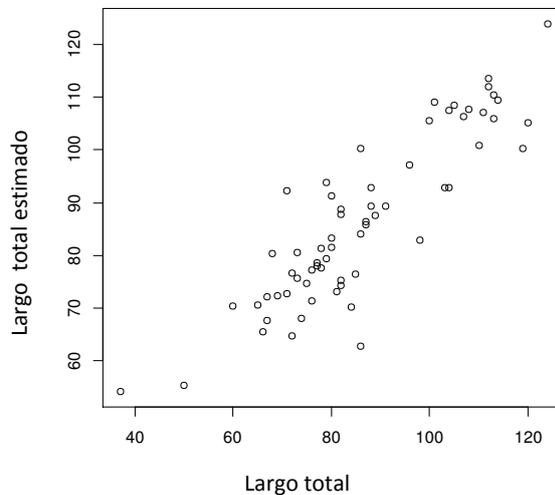


Figura 3. Relación entre largo total real con el largo total estimado de los carpinchos silvestres y del experimento

Por último, se utilizaron estos coeficientes obtenidos para estimar el LT de los carpinchos que emitieron cada una de las fecas recolectadas en los sitios muestreados.

Análisis estadísticos

Para el estudio de las dinámicas de salud de las poblaciones de carpincho y las relaciones con las variables ambientales, variable poblacional densidad de carpinchos y el tamaño del individuo estimado a partir del LT, se usaron modelos mixtos generalizados con respuesta binomial negativa y el factor al azar anidado campaña (paquete glmmADMB de R). Las variables ambientales utilizadas fueron: los valores de las precipitaciones totales, las temperaturas promediamáxima y promedio mínima y el promedio total de 1 a 6 meses anteriores a la recolección de las heces.

Para el estudio de las asociaciones parasitarias intra e inter phylum, el enfoque general consistió en utilizar modelos multivariantes en los que las respuestas fueron las abundancias parasitarias (incluyendo los ceros) o la presencia/ausencia (en el caso de *E. boliviensis*) de la especie parásita focal estimada a partir de los conteos de huevos/ooquistes fecales y las variables independientes de interés fueron las abundancias o la presencia/ausencia (en el caso de *E. boliviensis*) de los otros parásitos (usando un modelo separado para cada tipo de parásito). También se incluyeron variables que fueron consideradas como potenciales enmascaradoras o modificadoras de efecto o que podrían resultar en autocorrelación espacial o temporal, ya que una asociación entre dos parásitos podría darse meramente porque, por ejemplo, ambos parásitos comparten los mismos factores de riesgo (Hellard *et al.*, 2012). Se realizaron dos grupos de análisis (Tabla 1), primero se analizaron datos de muestras de campo para identificar asociaciones entre los diferentes parásitos y segundo, se usaron datos de muestras rectales para evaluar si las asociaciones persistían cuando se consideraban las características de los hospedadores.

El análisis que utilizó muestras de campo tiene la ventaja de tener un tamaño muestral mayor, y como consecuencia mayor poder estadístico, pero con potencial para enmascarar y modificar efecto, ya que la información disponible para estos datos sólo permitió controlar por sitio y campaña de muestreo. El análisis con datos de muestras rectales, tiene la ventaja de contar con información sobre características del hospedador, lo que permitió controlar su influencia en las relaciones entre parásitos, pero es más conservador porque el limitado tamaño muestral podría reducir las chances de detectar una asociación significativa verdadera. Por lo tanto, se tuvieron en cuenta estas características de ambos análisis a la hora de las inferencias realizadas a partir de los resultados obtenidos.

Se usó el programa R v. 2.15.2 (R Development Core Team 2012) para realizar Modelos Lineales Generalizados (MLG) o Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM) con respuesta binomial negativa. Para muestras de campo, los análisis se llevaron a cabo con MLGM e incluyeron “campaña” como efecto al azar para controlar la autocorrelación temporal de las observaciones de la misma campaña. “Sitio” fue adicionado como efecto fijo para controlar la falta de independencia de las observaciones pertenecientes a la misma localidad de muestreo (Tabla 1). Para muestras rectales se usó MLG, y además de la variable independiente de interés (un tipo de parásito dado), los modelos incluyeron varios factores ambientales y del hospedador, a saber, condición corporal, sexo, LT, año de muestreo y estación. Los últimos dos fueron también incluidos como términos de interacción de

dos vías con el tipo de parásito independiente. Cuando los conteos de ooquistes de *E. boliviensis* eran la respuesta, los MLG con respuesta binomial negativa se usaron luego de convertir los datos a datos de presencia/ausencia, porque los MLG con respuesta binomial negativa no convergen. Eliminación paso a paso de términos que no fueron importantes para la bondad del modelo se realizaron usando el criterio de información Akaike (AIC) (Akaike, 1994) (un único término no se retenía en el modelo si su inclusión no reducía el AIC por al menos 2 unidades).

Origen de la muestra	Tipo de modelo	Respuesta	Variable de interés	Factor fijo adicional	Efecto al azar
Campo	GLMM con respuesta binomial negativa	<i>Eimeria</i> OPG (no <i>E. boliviensis</i>)	Viannaiidae HPG*	Sitio	Campaña
			<i>E. boliviensis</i> OPG*		
		<i>E. boliviensis</i> OPG	Viannaiidae HPG*		
			Other <i>Eimeria</i> OPG*		
		Viannaiidae HPG	<i>E. boliviensis</i> OPG otras <i>Eimeria</i> OPG*		
Recto	GLM con respuesta binomial negativa	<i>Eimeria</i> OPG (no <i>E. boliviensis</i>)	Viannaiidae EPG*	Sexo LT Condición corporal	Nada
			<i>E. boliviensis</i> OPG		
		Viannaiidae HPG	Other <i>Eimeria</i> OPG*		
			<i>E. boliviensis</i> OPG		
	GLM con respuesta binomial	<i>E. boliviensis</i> OPG	Viannaiidae HPG	Año (y su interacción con el paásito)	
			Other <i>Eimeria</i> OPG		

Tabla 1. Descripción de la estructura de los modelos para investigar las relaciones entre los parásitos gastrointestinales del carpincho

RESULTADOS

Se analizaron en total 1419 heces recolectadas entre septiembre de 2010 y julio de 2013.

A partir de los análisis coproparasitológicos de estas heces se identificaron los huevos de los siguientes parásitos: superfamilia Trichostrongiloidea (*Hydrochoerisnema anomalobursata*, *Vianella hydrochoeri* y *Trichostrongylus axei*), *Echinocoleus hydrochoeri*, *Portozoophaga obesa*, *Strongyloides chapini*, *Trichuris* sp., *Monoecocestus* sp. y ooquistes de *Eimeria* sp.

En las figuras 4 a 11 se presentan las prevalencias, intensidades medias y abundancias medias de cada uno de taxones encontrados en las muestras fecales.

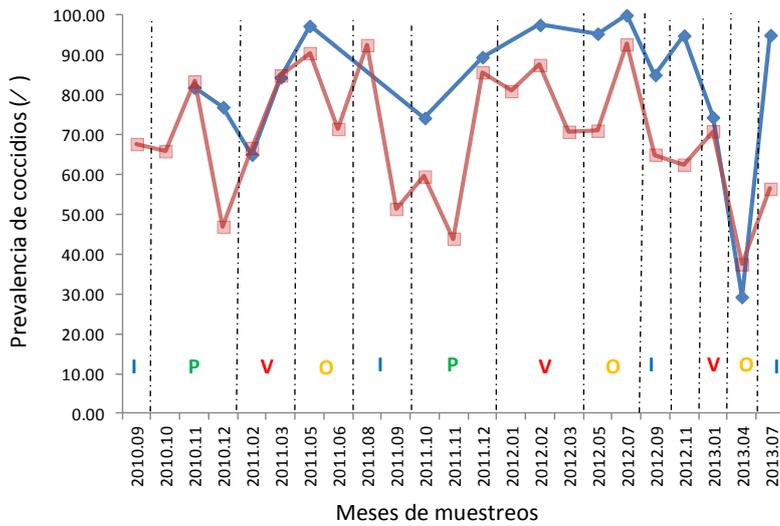


Figura 4. Prevalencia de coccidios totales por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño.

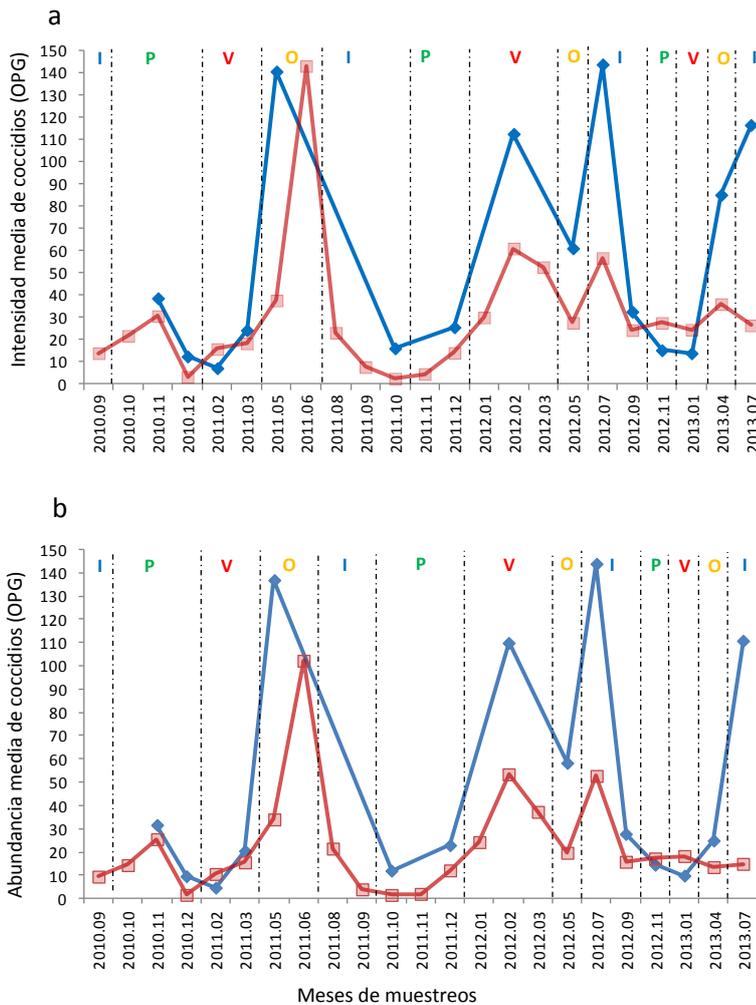


Figura 5. Intensidad media y abundancia media de coccidios totales por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño.

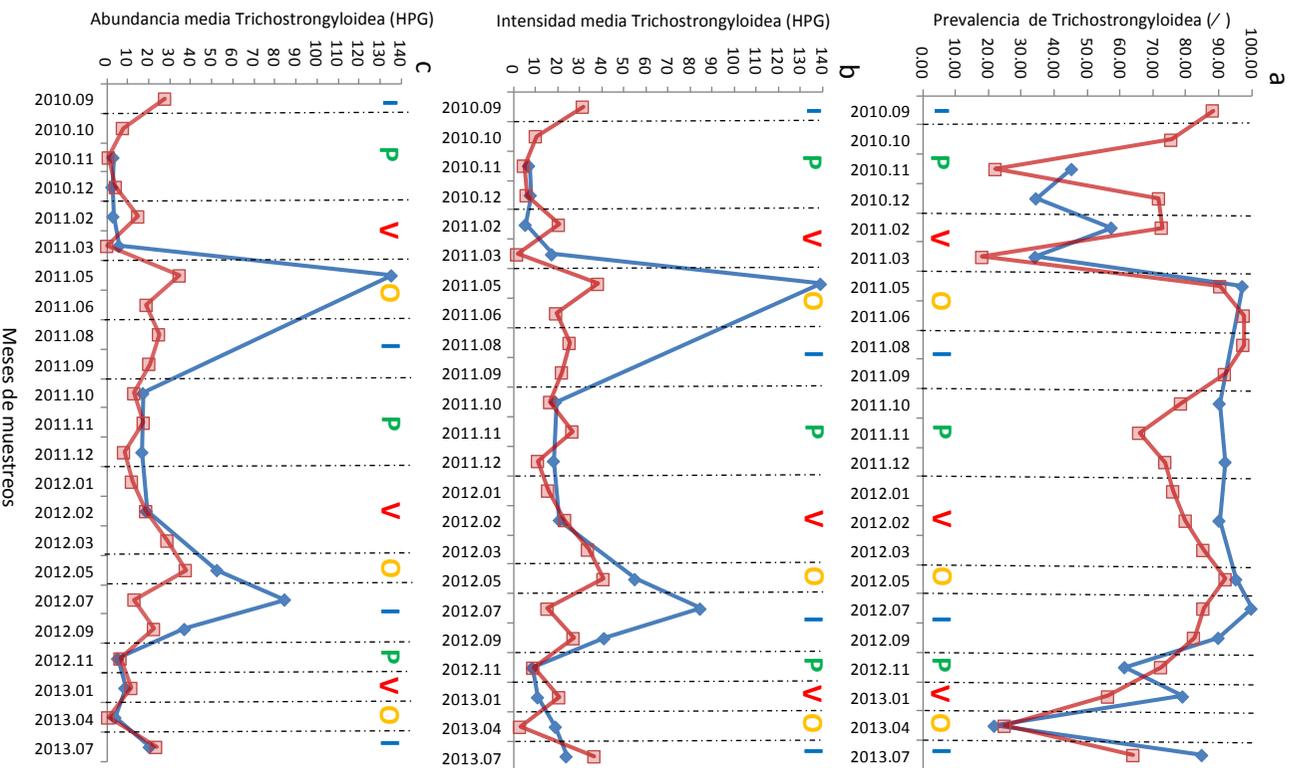


Figura 6. Prevalencia (a), Intensidad media (b) y abundancia media (c) de Trichostrongyloidea por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O:

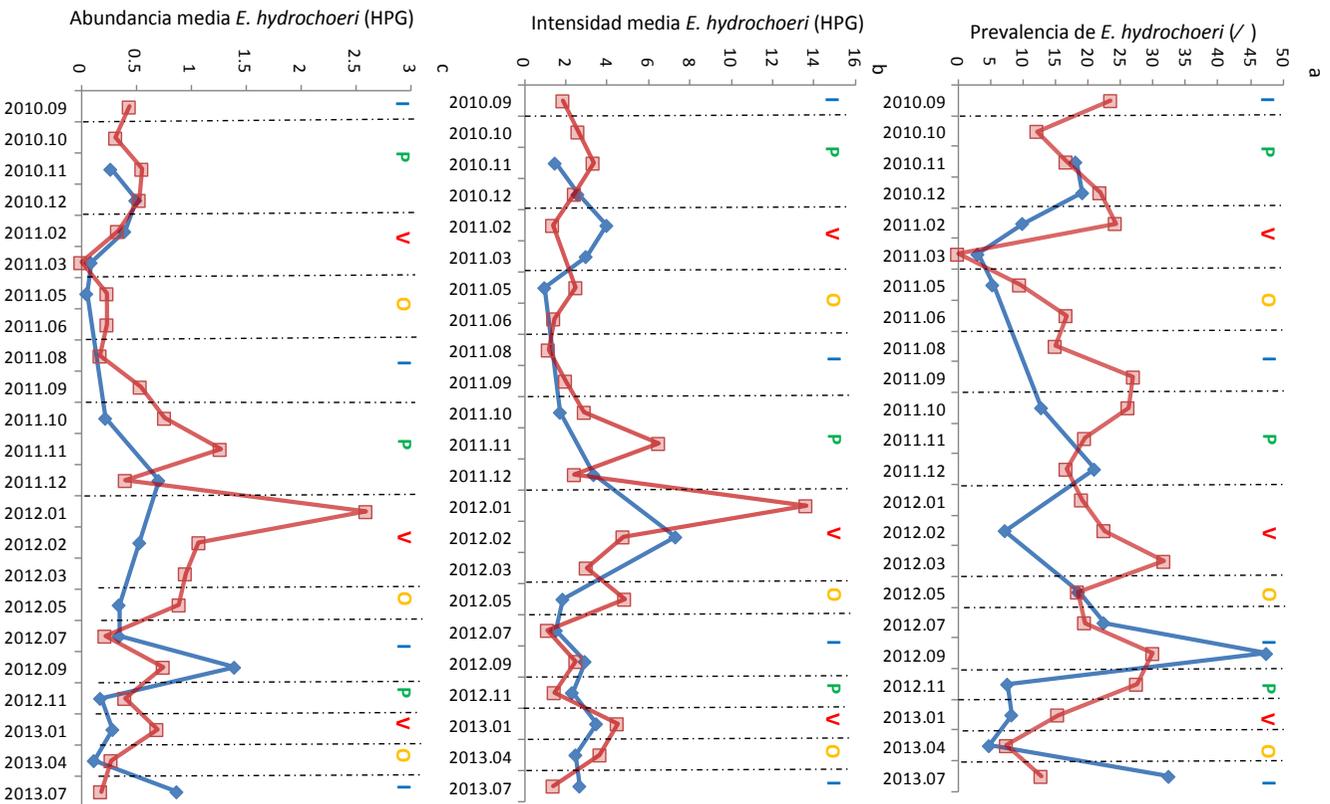


Figura 7. Prevalencia (a), Intensidad media (b) y abundancia media (c) de *Echinococcus hydrochoeri* por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincon del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O:

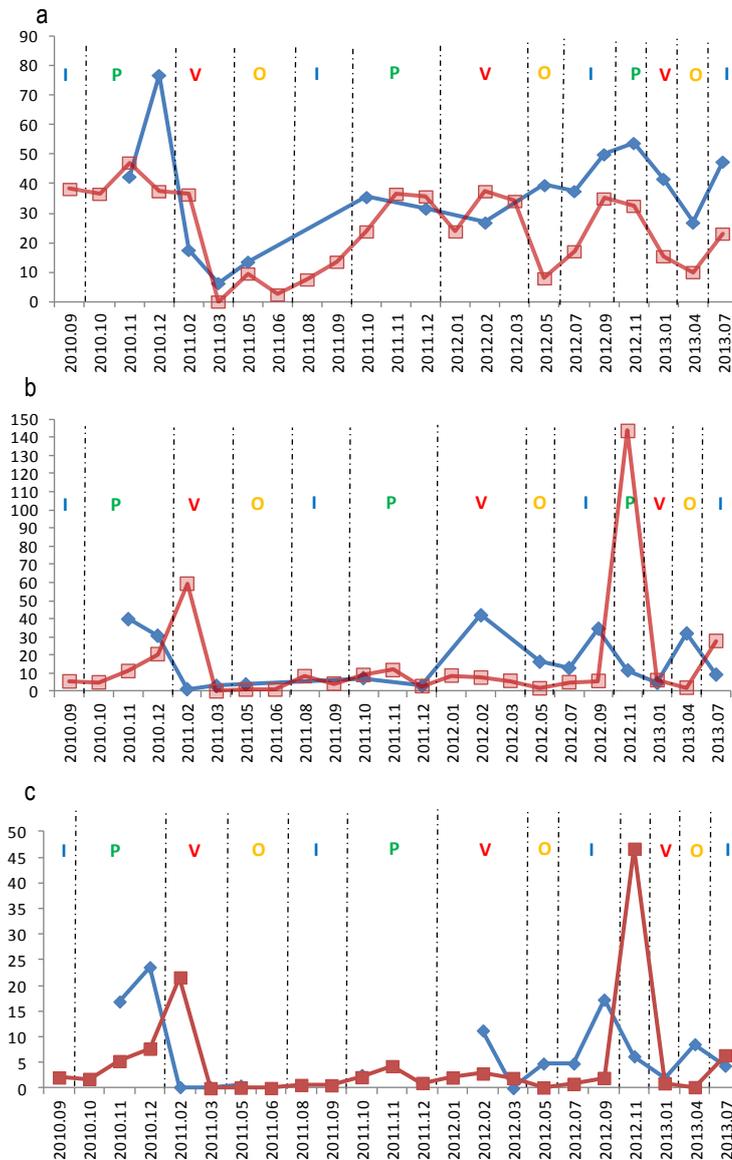


Figura 8. Prevalencia (a), Intensidad media (b) y abundancia media (c) de *Monoecocestus* sp. por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O:

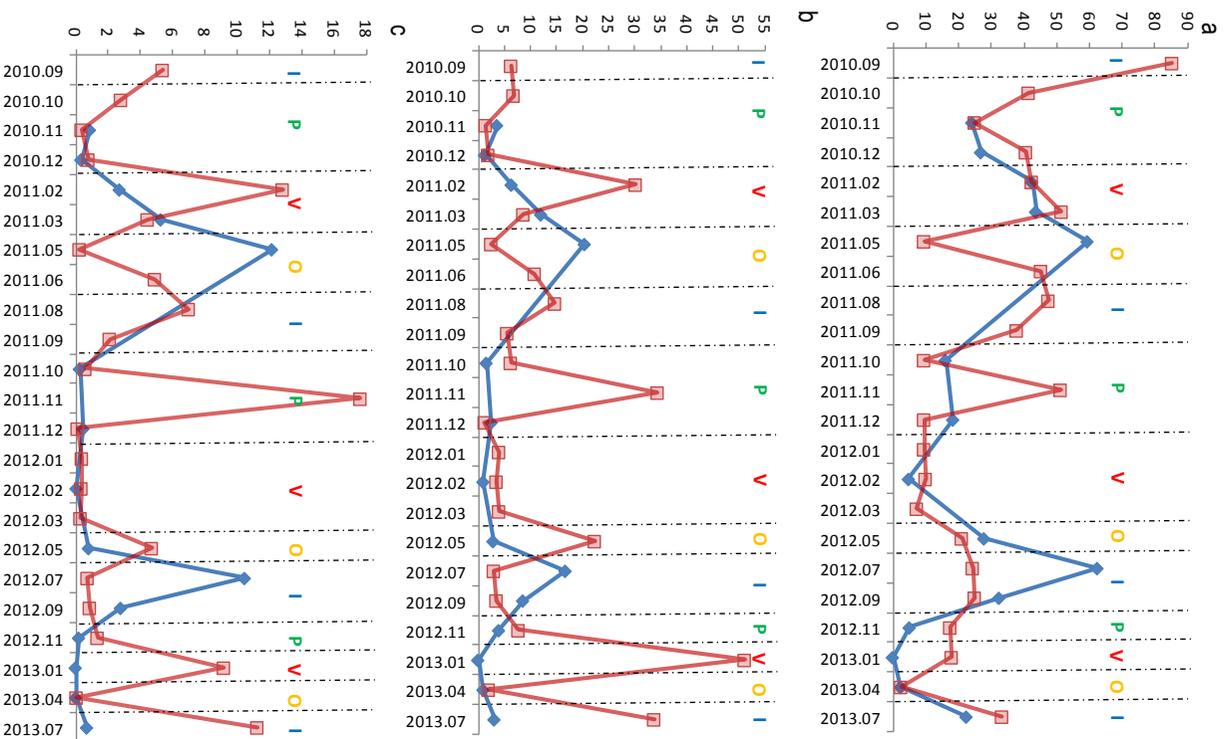


Figura 9. Prevalencia (a), Intensidad media (b) y abundancia media (c) de *Strongyloides chapini* por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño.

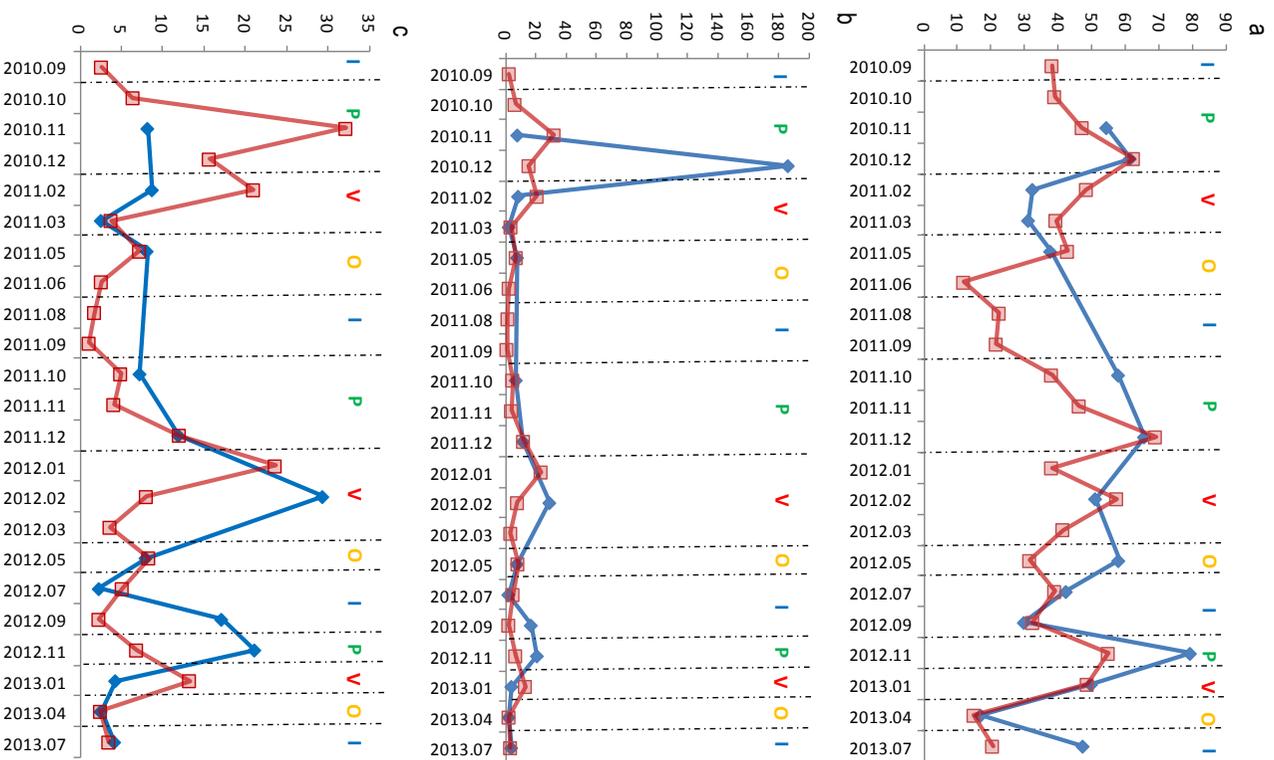


Figura 10. Prevalencia (a), Intensidad media (b) y abundancia media (c) de *Protozoophaga obesa* por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O:

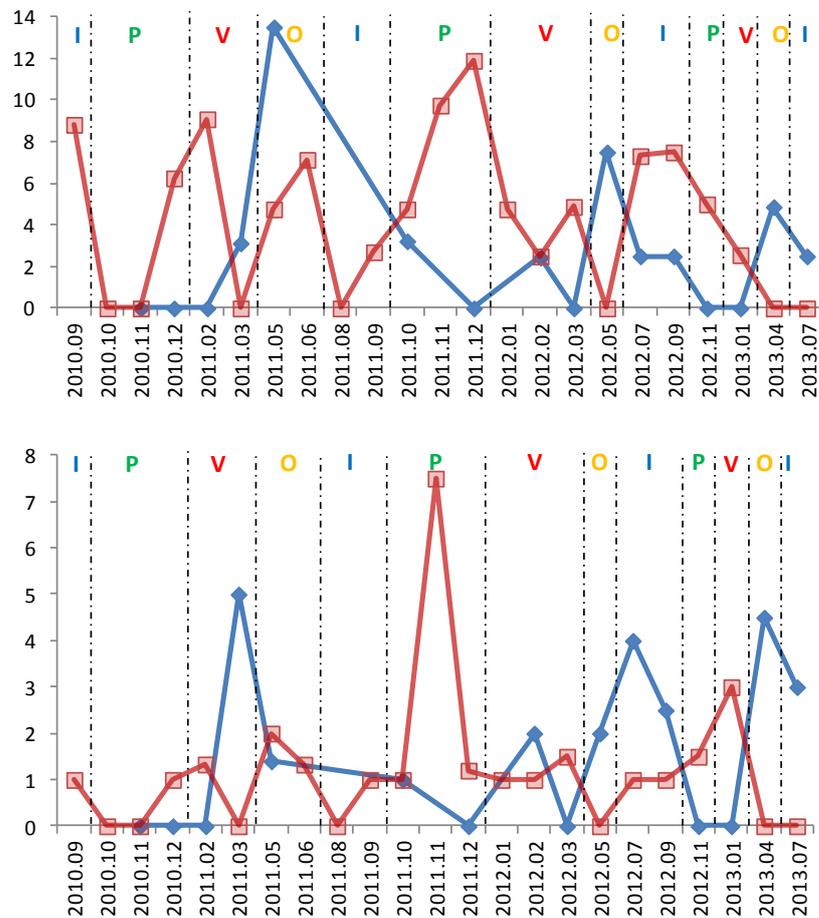


Figura 11. Prevalencia (superior) e Intensidad media (inferior) de *Trichuris* sp. por campaña. En azul los valores correspondientes a las heces recolectadas en Santa Bárbara y en rojo las prevalencias obtenidas a partir de las muestras del Rincón del Socorro. I: invierno; P: primavera; V: verano; O: otoño.

Coccidios totales (Figura 4 y 5)

Se reportaron altas prevalencias en ambos sitios muestreados (Figura 4). Las menores prevalencias se registraron en el mes de abril de 2013 (29.27 % y 37.5 % para Santa Bárbara y Rincón del Socorro respectivamente). Las mayores prevalencias se registraron en otoño e invierno para ambos sitios (prevalencias mayores a 90 %) a lo largo de los años de muestreo excepto para los años 2010 y 2013 en la estancia Rincón del Socorro.

Para Santa Bárbara se registraron las menores intensidades medias en los meses de febrero 2011 (7.2 parásitos por hospedador parasitado) y enero 2013 (13.94 parásitos). Los mayores valores se registraron en mayo de 2011 y en julio de 2012 (140.75 y 143.95 respectivamente). La mayor intensidad total se registró en mayo de 2011 y fue igual a 1565 OPG.

En el caso de Rincón del Socorro, los menores valores de intensidad media se registraron en diciembre de 2010 y en octubre y noviembre de 2011 (3.4, 2.6 y 4.6 respectivamente). Los valores más altos se observaron en los meses de junio de 2011 (143.17) y en febrero de 2012 (61.06). La

mayor intensidad total de coocidios se contó en junio de 2011 y fue igual a 2877 OPG. Las abundancias medias más altas se registraron en ambos sitios durante el invierno (102.26 para el Socorro y 136.9 para Santa Bárbara). Las menores fueron en primavera (1.5) de 2010 para el Socorro y verano (9.7) de 2011 para Santa Bárbara.

Superfamilia Trichostrongyloidea (Figura 6)

Las prevalencias de huevos de esta superfamilia, que abarcan los huevos de las especies *V. hydrocheri*, *H. anomalobursata* y *T. axei.*, variaron entre 22 y 100 % en Santa Bárbara y entre 18 y 97.6 % en Rincón del Socorro. Entre mayo del 2011 y enero del 2013 no se registraron prevalencias menores al 60 % en ambos sitios muestreados (en enero de 2013 en Rincón del Socorro se reportó una prevalencia de 56 %).

Los mayores valores de intensidad media se registraron en mayo de 2011 y junio de 2012 (139.38 y 84.85 respectivamente) en el sitio Santa Bárbara. El mayor número de huevos en este sitio se registró en el mes de mayo de 2011 y fue igual a 1436. Mientras que para el Socorro las intensidades medias sólo superaron los 40 huevos por heces en el mes de junio de 2012 (40.9 hpg) y durante los meses de mayo y septiembre de 2011 se registraron las intensidades totales más elevadas (315 en ambos meses).

Las abundancias medias también fueron bajas y variaron entre 0.3 y 37.7 hpg para el Socorro. Mientras que para Santa Bárbara variaron entre 3.3 y 135.6 hpg.

Echinocoleus hydrochoeri (Figura 7)

Las prevalencias de huevos *E. hydrochoeri* variaron entre 3 y 32.5 % en Santa Bárbara y entre 0 y 31.7 % en Rincón del Socorro. Las mayores intensidades medias cuyos valores fueron igual a 7.3 hpg en Santa Bárbara y 4.7 y 4.85 hpg en el Socorro, se registraron en febrero de 2012 y en febrero y mayo de 2012 respectivamente. La abundancia media solo supero el 1 hpg en pocas ocasiones (Figura 7).

Monoecocestus sp. (Figura 8)

Las prevalencias de huevos *Monoecocestus* sp. variaron entre 6.25 y 76.9 % en Santa Bárbara y entre 0 y 47.2 % en Rincón del Socorro. En general en el Socorro las intensidades medias fueron bajas, menores a 10 hpg. Sin embargo en febrero de 2011 y en noviembre de 2012 se reportaron valores medios iguales a 59.3 y 143.5 respectivamente. Mientras que en Santa Bárbara las intensidades medias más altas fueron 39.8 y 41.9 en los meses de enero de 2011 y febrero de 2012 respectivamente. El mayor valor de intensidad total reportado en el Socorro y en Santa Bárbara fueron 815 y 532 hpg para ambos sitios. La abundancia media supero los 25 hpg sólo una vez durante la primavera del 2012 en el Socorro (Figura 8).

Strongyloides chapini (Figura 9)

Las prevalencias de huevos de este nematode variaron entre 0 y 59.45 % en Santa Bárbara y entre 2.5 y 85.29 % en Rincón del Socorro. El mayor valor se registró en el mes de mayo de 2011 y septiembre de 2010 respectivamente.

Las intensidades medias variaron entre 0 y 20.45 hpg en Santa Bárbara y entre 1.25 y 51.1 hpg en el Socorro. Mientras que la intensidad total más elevada se registró en mayo de 2011 (204 hpg) en Santa Bárbara y en julio de 2012 (267 hpg) en Socorro.

Las abundancias medias sólo superaron el 1 hpg en el 33.3 % de los muestreos en Santa Bárbara y en el 50 % en el Socorro.

Protozoophaga obesa (Figura 10)

Las prevalencias de huevos de *P. obesa* variaron entre 17 y 79.5 % en Santa Bárbara y entre 15 y 69.04 % en Rincón del Socorro. Las intensidades medias variaron entre 2.3 y 186.56 hpg en Santa Bárbara y entre 1.12 y 32.17 hpg en el Socorro. Mientras que la intensidad total más elevada se registró en diciembre de 2010 (2002 hpg) en Santa Bárbara y en noviembre de 2010 (204 hpg) en Socorro. Las abundancias medias sólo superaron el 10 hpg en el 26.7 % de los muestreos en Santa Bárbara y en el 8.7 % en el Socorro.

Trichuris sp. (Figura 11)

Las prevalencias de huevos de *Trichuris* sp. variaron entre 0 y 13 % en Santa Bárbara y entre 0 y 9 % en Rincón del Socorro.. El mayor valor se registró en el mes de mayo de 2011 y diciembre de 2011 respectivamente. Las intensidades medias variaron entre 1 y 5 hpg en Santa Bárbara y entre 1 y 7.5 hpg en el Socorro. Mientras que la intensidad total más elevada se registró en noviembre de 2011 (23 hpg) en Socorro y en abril de 2013 (8 hpg) en Santa Bárbara. Las abundancias medias nunca superaron el valor de 1 hpg en ambos sitios de muestreo.

Estacionalidad de las cargas parasitarias

En general, no se evidencio estacionalidad para ninguno de los diferentes taxones de parásitos encontrados en las heces debido a que existió una interacción entre las estaciones y el año de muestreo ($p < 0.001$). Sin embargo se han registrado diferencias significativas entre algunas estaciones dependiendo del año de muestreo y del parásito.

Para el caso de los coccidios, durante los años de muestreo se registraron las menores cargas de ooquistes en invierno excepto para el año 2010, donde en primavera se registraron menores cargas de ooquistes que en invierno ($p = 0.005$). En el año 2011, en invierno hubo menos recuentos de ooquistes que en primavera y otoño ($p < 0.001$ y $p = 0.005$ respectivamente). No se encontraron diferencias significativas entre las demás estaciones. En el año 2012 se encontraron diferencias significativas entre invierno y las otras 3 estaciones ($p = 0.005$ para otoño y $p < 0.001$ para primavera y verano). Y en el año 2013, se registraron menores cargas en invierno comparado con otoño y verano ($p < 0.001$ y $p = 0.0035$ respectivamente) y además verano tuvo menos coccidios que otoño ($p = 0.0012$).

En el caso de lo *Trichostrongyloides*, hubo también interacción con el año de muestreo por lo que no se observó una consistencia en los resultados. Sólo se encontró diferencias significativas entre invierno y primavera e invierno y otoño de 2011. Donde en invierno hubo menos conteos comparado con ambas estaciones ($p = 0.0319$).

No hubo tampoco, a lo largo de los años de muestreo, consistencia en los resultados para el caso de los *Strongyloides chapini*. En el año 2011, la estación con mayor abundancia fue verano, la cual difirió

significativamente de otoño e invierno ($p=0.031$ y $p=0.011$). Mientras que primavera tuvo mayores valores que invierno ($p=0.04$). Durante el año 2012 otoño difirió significativamente y registró mayores intensidades que las otras tres estaciones ($p<0.001$ para invierno y primavera y $p=0.014$ para verano). A su vez, primavera presentó menores valores que las otras tres estaciones ($p<0.001$ para verano y otoño y $p=0.015$ para invierno). Finalmente en el año 2013, otoño registró significativamente mayores valores que verano e invierno ($p<0.001$) y este último más que verano ($p<0.001$).

En el 2010, invierno fue positiva y significativamente diferente que otoño en cuanto a la intensidad de *Monoecocestus* sp. ($p=0.0031$). En el 2011, En primavera fue significativa y mayor la intensidad de *Monoecocestus* sp. que en las otras tres estaciones ($p<0.001$ y $p=0.0025$ para invierno). Mientras que verano fue la estación con menor registro de HPG comparada con las otras tres ($p<0.001$) e invierno tuvo mayor intensidad que otoño ($p=0.015$). En el año 2012 y 2013 la única diferencia significativa encontrada fue entre invierno y las demás estaciones. En invierno se registró mayor intensidad ($p<0.001$). No se encontraron diferencias significativas entre las otras estaciones.

Durante el año 2010 no se registró diferencias significativas entre las estaciones con respecto a la intensidad de *E. hydrocheri*. En el 2011, se registraron mayores valores en primavera comparado con verano y otoño ($p=0.004$ y $p=0.007$ respectivamente). Además invierno presentó más intensidad que verano ($p<0.001$). En el 2012, la única diferencia significativa encontrada fue entre primavera e invierno, donde en primavera los registros fueron mayores ($p=0.002$). En el año 2013, otoño difirió significativamente y presentó mayores HPG que verano ($p=0.007$).

Por último *Protozoophaga obesa*, presentó inconsistencia en los resultados como los demás parásitos. No se encontraron diferencias entre las estaciones de 2010. En el 2011, primavera tuvo mayores valores que verano y otoño ($p=0.0066$ y $p<0.001$). Invierno tuvo más que verano y éste último más que otoño ($p<0.001$ para ambas comparaciones). En 2012, invierno tuvo más que otoño y verano ($p<0.001$ y $p=0.016$). Mientras que primavera presentó el mismo patrón, fueron mayores y significativos sus valores con respecto a otoño y verano ($p<0.001$ y $p=0.017$). En 2013, invierno tuvo mayores valores que otoño y verano como en el año anterior ($p<0.001$) y otoño difirió del verano registrando mayores valores ($p=0.014$).

Relación entre variables ambientales y conteos de formas evolutivas de parásitos

En la tabla 2 se muestran los modelos definitivos para cada uno de los parásitos encontrados en las heces. No se reporta ningún modelo para *Strongyloides chapini* ni para *Trichuris* sp. debido a que no se han encontrado relaciones significativas entre el recuento de huevos de estos parásitos y las variables analizadas durante todo el período de estudio.

-  La intensidad de coccidios varió en función de la temperatura promedio de 4 meses anteriores, del LT estimado y la densidad relativa de 2 y 4 meses anteriores a un determinado muestreo. La asociación con estas últimas tres variables fue negativa y significativa ($p < 0.001$ excepto para la densidad relativa de 2 meses anteriores donde $p = 0.022$). Es decir que los individuos más pequeños, por ende que tienen heces menos anchas, tuvieron mayor intensidad de ooquistes en sus heces. Además, períodos con menos carpinchos, densidades más bajas, son seguidos de períodos con mayores cargas de ooquistes en las heces (Tabla 2). Mientras que la temperatura

promedio mensual 4 meses anteriores a un determinado muestreo tuvo una asociación positiva y significativa con el recuento de ooquistes, a mayor temperatura promedio pasadas, más ooquistes fueron contados en las heces (Tabla 2).

- 🐾 En el caso de las intensidades de *Trichostrongyloidea* las variables de mayor importancia que estuvieron asociadas con la respuesta fueron el LT estimado, precipitaciones pasadas de uno y seis meses anteriores, densidad del hospedador pasada (seis meses anteriores) y la temperatura promedio de 4 meses anteriores (Tabla 2). La relación con el tamaño del carpincho fue negativa y significativa ($p < 0.001$), por lo que individuos más pequeños tuvieron mayores cargas de trichostrongiloides. La asociación con ambos valores de precipitaciones fue negativa y significativa ($p = 0.047$ para los seis meses y $p = 0.007$ para un mes anterior). Por lo que meses lluviosos son seguidos de intensidades menores de huevos de *Trichostrongyloidea*. Por otra parte la densidad del hospedador y la temperatura promedio pasada tuvieron una asociación positiva y significativa ($p < 0.001$ para ambas variables), es decir, a mayores densidades y temperaturas promedio pasadas, mayores cargas de trichostrongiloides en las heces en los meses siguientes.
- 🐾 La intensidad de *E. hydrocheri* tuvo una fuerte asociación positiva con las precipitaciones pasadas, dos meses anteriores ($p = 0.027$), por lo que períodos lluviosos son seguidos de un aumento en las cargas parasitarias de este parásito en las heces. La densidad del hospedador pasada (dos meses) y la temperatura mínima promedio de dos meses anteriores, también fueron variables de importancia (Tabla 2), pero en este caso la asociación fue negativa ($p < 0.001$ y $p = 0.0059$ respectivamente). Por lo que luego de meses más fríos y con menos densidades de carpinchos se observan más cargas de huevos de *E. hydrocheri* en las heces.
- 🐾 El LT estimado, densidad del hospedador y temperatura promedio pasadas (ambas de dos meses anteriores) fueron las variables de importancia y que estuvieron asociadas significativamente con la carga de *Monoecocetus* sp. La asociación fue negativa en los tres casos ($p < 0.001$ excepto para la densidad que fue $p = 0.0013$). Los individuos más pequeños tuvieron mayores intensidades y los meses donde se contaron más huevos fueron precedidos por meses con bajas densidades de carpinchos y menores temperaturas promedios (Tabla 2).

Modelo = *coc.total* ~ sitio + LT+ densidad relativa 2 meses anteriores + densidad relativa 4 meses anteriores+ temperatura promedio 4 meses anteriores, factor al azar: campaña

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor
Intercepto	4.42942	0.87884	<0.001
Sitio Santas Bárbara estero 2	-0.4867	0.27524	0.077
Sitio Socorro estero	-1.6714	0.22655	<0.001
Sitio Socorro Tajamar	-0.4742	0.2688	0.078
LT estimado	-0.0291	0.00397	<0.001
densidad relativa 2 meses anteriores	-0.0446	0.00700	<0.001
densidad relativa 4 meses anteriores	-0.0151	0.00661	0.022
Temp. promedio 4 meses anteriores	0.17614	0.03414	<0.001

Modelo = *Trichostrongyloidea* ~ sitios + LT + precipitación 6 meses anteriores+ precipitación 1 mes anterior + densidad relativa 6 meses anteriores + temperatura promedio 4 meses anteriores, factor al azar: campaña

Intercepto	3.32782	0.67622	<0.001
Sitio Santas Bárbara estero 2	0.11392	0.209930	0.5873
Sitio Socorro estero	-0.6866	0.193210	<0.001
Sitio Socorro Tajamar	-0.8202	0.2349	<0.001
LT estimado	-0.0171	0.003248	<0.001
precipitación 1 mes anterior	-0.0025	0.0009	0.0066
precipitación 6 meses anteriores	-0.0026	0.0012	0.047
densidad relativa 6 meses anteriores	0.0207	0.006008	<0.001
Temp. promedio 4 meses anteriores	0.09238	0.027820	<0.001

Modelo = *E. hydrochoeri* ~ sitios + precipitación 2 meses anteriores+ densidad relativa 2 meses anteriores + temperatura mínima promedio 2 meses anteriores, factor al azar: campaña

Intercepto	1.49115	0.63788	0.01940
Sitio Santas Bárbara estero 2	-1.258	0.34686	<0.001
Sitio Socorro estero	0.11707	0.30673	0.70271
Sitio Socorro Tajamar	-0.2779	0.34989	0.42703
precipitación 2 meses anteriores	0.00481	2.22	0.02669
densidad relativa 2 meses anteriores	-0.0401	0.01142	<0.001
Temp. mín. promedio 2 meses anteriores	-0.1086	0.03942	0.00588

Modelo = *Monoecocestus* sp. ~ sitios + LT estimado + densidad relativa 2 meses anteriores + temperatura promedio 2 meses anteriores, factor al azar: campaña

Intercepto	8.83653	1.4648	<0.001
Sitio Santas Bárbara estero 2	0.65036	0.38507	0.0912
Sitio Socorro estero	-0.4061	0.3734	0.2768
Sitio Socorro Tajamar	-0.4307	0.39831	0.2795
LT estimado	-0.0312	0.00852	<0.001
densidad relativa 2 meses anteriores	-0.0417	0.01304	0.00139
Temp. promedio 2 meses anteriores	-0.1860	0.0545	<0.001

Modelo = *P. obesa* ~ sitios + temperatura promedio 2 meses anteriores + temperatura promedio 4 meses anteriores + precipitación 6 meses anteriores, factor al azar: campaña

Intercepto	2.11723	0.75178	0.0049
Sitio Santas Bárbara estero 2	0.25128	0.23323	0.2813
Sitio Socorro estero	-0.40646	0.21035	0.0533
Sitio Socorro Tajamar	-0.26960	0.22146	0.2235
Temp. promedio 2 meses anteriores	-0.00469	0.00155	0.0025
Temp. promedio 4 meses anteriores	0.15126	0.03677	<0.001
precipitación 6 meses anteriores	-0.17666	0.03647	<0.001

Tabla 2. Modelos lineales mixtos generalizados con una respuesta binomial negativa que describen las asociaciones entre las variables ambientales, densidad de carpinchos y tamaño del individuo y la intensidad de los nematodos y coccidios en las heces (N = 1419).

Asociaciones parasitarias inter e intraespecíficas

Muestras de campo

En la Tabla 3 se encuentra un resumen de los resultados. Los conteos de *E. boliviensis* estuvieron asociados positivamente con los conteos de las otras especies de *Eimeria* combinadas (coef.= 0.0061 \pm 0.0017; $p= 0.0002$) y también con los conteos de huevos de nematodos Viannaiidae (coef.= 0.0063 \pm 0.0023; $p = 0.008$). Los conteos de especies de *Eimeria* combinadas estuvieron asociados positivamente y significativamente con *E. boliviensis* (coef.= 0.0795 \pm 217 0.0173; $p < 0.0001$) y también con los conteos de huevos de Viannaiidae (coef.= 0.0034 \pm 0.0012; $p= 0.0033$). Los conteos de huevos de Viannaiidae no estuvieron asociados con los conteos de *E. boliviensis*, pero estuvieron asociados positivamente con otras *Eimeria* (coef.= 0.0011 \pm 0.0004; $p= 0.0031$).

Variables independientes		<i>E. boliviensis</i>	Otras <i>Eimeria</i>	Viannaiidae
Variables respuestas				
<i>E. boliviensis</i>	<i>f</i>		+	NS
	<i>r</i>		NS	+/- ^c
Otras <i>Eimeria</i>	<i>f</i>	+		+
	<i>r</i>	NS		+/- ^a
Viannaiidae	<i>f</i>	+	+	
	<i>r</i>	- ^a	+/- ^b	

^a Depende del sexo y la estación; ^b Depende del año y de la estación; ^c Depende del año y del largo total; *f* : muestras de campo; *r* : muestras rectales

Tabla 3: Resumen de las asociaciones observadas entre los parásitos gastrointestinales de los carpinchos silvestres.

Muestras rectales

Los conteos de huevos de nematodos Viannaiidae se asociaron con los otros parásitos de una manera compleja. En primer lugar, se encontró una asociación negativa entre las cargas de nematodos y *E. boliviensis*, pero sólo para las hembras en la primavera (Tabla 4). En segundo lugar, la relación de Viannaiidae con las especies de *Eimeria* spp. combinadas dependió del año y la temporada de muestreo (Tabla 4). Mientras que en otoño e invierno no se observaron asociaciones significativas, la relación fue positiva y significativa en las primaveras de 2010 y 2012, pero negativa en los veranos de 2010 y 2011 (Tabla 4). Cuando las *Eimeria* spp. combinadas fueron la variable respuesta, las asociaciones encontradas fueron igualmente complejas y dependieron de la estación y del sexo. En machos, la relación fue significativamente positiva en primavera, verano e invierno, mientras que en hembras fue significativamente negativa en otoño (Tabla 5).

Para *E. boliviensis*, hubo una asociación positiva y significativa con nematodos Viannaiidae pero sólo en individuos grandes durante el año 2012 y una asociación negativa en individuos pequeños en 2010 y 2011 (Tabla 5). El resto de las asociaciones entre los parásitos y los términos de interacción estudiados no fueron significativas (Tabla 3).

Respuesta= Viannaiidae
 Variables independientes= *E. boliviensis* + Estación + Largo total + sexo+ *E. boliviensis* × estación + *E. boliviensis* × Sexo

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor	ΔAIC *
Intercepto	9.254	2.613	<0.001	-
<i>E. boliviensis</i>	-2.928	0.984	0.003	-
Estación (verano) ^a	0.733	0.465	0.115	-
Estación (otoño) ^a	1.152	0.465	0.115	-
Estación (invierno) ^a	0.017	0.437	0.969	-
Largo total	-0.052	0.021	0.014	4
Sexo (machos) ^b	-0.327	0.342	0.338	-
<i>E. boliviensis</i> × Estación (verano) ^a	0.230	1.139	0.840	2
<i>E. boliviensis</i> × Estación (otoño) ^a	2.981	1.396	0.033	2
<i>E. boliviensis</i> × Estación (invierno) ^a	3.024	1.331	0.023	2
<i>E. boliviensis</i> × sexo	3.277	1.122	0.003	5

Respuesta= Viannaiidae
 Variables independientes= *Eimeria* spp. (no *E. boliviensis*) + Año + Estación + *Eimeria* spp.*Año + *Eimeria**Estación

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor	ΔAIC *
Intercepto	1.640	0.413	< 0.001	-
<i>Eimeria</i> spp	0.104	0.046	0.023	-
Año (2011) ^a	0.980	0.462	0.034	-
Año (2012) ^a	0.688	0.567	< 0.001	-
Estación (verano) ^b	1.050	0.606	0.083	-
Estación (otoño) ^b	1.580	0.607	0.009	-
Estación (invierno) ^b	0.265	0.483	0.583	-
<i>Eimeria</i> *Año (2011)	-0.046	0.029	0.121	11
<i>Eimeria</i> *Año (2012) ^a	0.348	0.109	0.001	11
<i>Eimeria</i> *Estación (verano) ^b	-0.331	0.099	< 0.001	10
<i>Eimeria</i> * Estación (otoño) ^b	-0.284	0.117	0.015	10
<i>Eimeria</i> * Estación (invierno) ^b	-0.065	0.041	0.116	10

^a Contraste simple – nivel de referencia : Primavera (los coeficientes reflejan la comparación con primavera).

^b Contraste simple – nivel de referencia: hembras.

^c Contraste simple – nivel de referencia: 2010 (los coeficientes reflejan la comparación con el año 2010).

* AIC el valor aumenta si el término es retirado.

Tabla 4: Modelos lineales generalizados con una respuesta binomial negativa mostrando los factores asociados con el conteo de huevos de Viannaiidae en las muestras rectales de los carpinchos silvestres.

Respuesta= *Eimeria* spp. (no *E. boliviensis*) (binomial negativa)
 Variables independientes= Viannaiidae + Año + Estación + Largo total + condición corporal + Viannaiidae * Estación + Viannaiidae * sexo

Término	Coefficientes	Error estándar	Valor de p	ΔAIC^*
Intercepto	12.601	3.131	< 0.001	-
Viannaiidae	-0.061	0.023	0.007	-
Año (2011) ^a	0.093	0.493	0.034	19
Año (2012) ^a	-2.801	0.731	<0.001	19
Estación (primavera) ^b	-0.894	0.746	0.231	-
Estación (verano) ^b	0.007	0.661	0.991	-
Estación (invierno) ^b	-0.771	0.740	0.298	-
Largo total	-0.051	0.023	0.025	3
Sexo (machos)	-0.597	0.470	0.204	-
Condición corporal	-0.646	0.197	0.001	7
Viannaiidae * Estación (primavera) ^b	0.067	0.024	0.006	12
Viannaiidae * Estación (verano) ^b	0.026	0.012	0.034	12
Viannaiidae * Estación (invierno) ^b	0.091	0.028	0.001	12
Viannaiidae * Sexo (machos) ^c	0.051	0.022	0.018	6

Respuesta= *Eimeria boliviensis* (binomial: presencia/ausencia)
 Variables independientes= Viannaiidae + Año+ largo total + sexo + Viannaiidae * año + Viannaiidae * largo total

Término	Coefficientes	Error estándar	Valor de p	ΔAIC^*
Intercepto	5.115	8.273	0.004	-
Viannaiidae	-1.124	0.501	0.025	-
Año (2011) ^a	-0.939	1.032	0.363	-
Año (2012) ^a	-5.860	3.162	0.064	-
Largo total	-0.037	0.066	0.570	-
Sexo (machos) ^c	-1.870	0.895	0.037	3
Viannaiidae * año(2011) ^a	0.099	0.109	0.365	4
Viannaiidae * año(2012) ^a	0.207	0.119	0.082	4
Viannaiidae * largo total	0.008	0.004	0.037	5

^a Contraste simple – nivel de referencia: 2010 (los coeficientes reflejan la comparación con el año 2010).

^b Contraste simple – nivel de referencia : otoño (los coeficientes reflejan la comparación con otoño).

^c Contraste simple – nivel de referencia: hembras.

* AIC el valor aumenta si el término es retirado.

Tabla 5. Modelos lineales generalizados con una respuesta binomial negativa (para las *Eimeria* spp) y binomial (para *E. boliviensis*) mostrando los factores asociados con el conteo de oquistes de los coccidios en las muestras rectales de los carpinchos silvestres.

DISCUSIÓN

Se identificaron en las heces huevos de la superfamilia Trichostrongyloidea, *E. hydrochoeri*, *S. cf chapini*, *P. obesa*, *Trichuris* sp., *Monoecocestus* spp. y ooquistes del género *Eimeria* pertenecientes al menos a tres especies *E. boliviensis*, *E. trinidadensis* y *E. ichiloensis*. A pesar de identificar tres especies distintas de coccidios, para los análisis se utilizó el recuento total de ooquistes.

A partir de los análisis de las fecas frescas recolectadas en la eco-región Esteros del Iberá, las mayores prevalencias las registraron los nematodos Trichostrongyloidea y *P. obesa* y los coccidios del género *Eimeria* spp. Estos resultados son semejantes, aunque superiores, a los reportados por otros autores en la zona y en otras regiones donde se distribuye el carpincho (Moreno *et al.* 1999, Corriale *et al.* 2011). Tanto la superfamilia Trichostrongyloidea como los coccidios tuvieron valores superiores al 50% en la mayoría de los meses muestreados. Sin embargo no fueron constantes sus valores entre los años de muestreo.

Las mayores intensidades y abundancia también las registraron la superfamilia Trichostrongyloidea y los coccidios a lo largo de los tres años de muestreo. Por otro lado, se reportaron muy bajas abundancias e intensidades de *P. obesa* en la zona de estudio a partir de las heces, a pesar de encontrar intensidades promedio de 575.53 parásitos adultos (alícuota del 10% del total del contenido del ciego, parte 3 de este capítulo) y el 100 por ciento de prevalencia en las 72 carpinchos sacrificados en la zona de estudio. Esto puede explicarse teniendo en cuenta que los huevos en las heces de *P. obesa* no son representativos de la carga interna de parásitos (se han reportado intensidades de más de 4000 ejemplares adultos dentro de los ciegos de los carpinchos y sólo 2 o 3 huevos en las heces analizadas, datos no publicados). *P. obesa* libera sus huevos en masas aglutinadas (Ribeiro y Amato 2003), lo cual lleva a que los huevos no se distribuyan por igual en las heces, como ocurre con los huevos de los cestodos (Nilsson *et al.* 1995), y por lo tanto al no existir una correlación entre los parásitos adultos internos y sus formas evolutivas en las heces, ésta última no es un buen estimador de abundancia.

Si bien los resultados no fueron consistentes a lo largo de los años de muestreo, hubo una tendencia a registrar mayores cargas de coccidios y *E. hydrochoeris* en meses más cálidos (primavera-verano) y mayores abundancias de la superfamilia Trichostrongyloidea, *S. chapini* y *Monoecocestus* sp. en los meses más fríos (otoño-invierno).

Sin embargo, en general, no se evidenció estacionalidad para ningún taxón de parásito encontrado en las heces debido a que existió una interacción entre las estaciones y el año de muestreo. Además la abundancia de las distintas especies parasitarias estuvo asociada a factores ambientales (precipitaciones y temperaturas) y a las densidades del hospedador, los cuales al fluctuar año tras año (Koelle *et al.* 2005), generan una variación constante en las dinámicas parasitarias. Como podemos observar los valores de prevalencia, intensidad y abundancia puntuales por estación muchas veces no son parámetros que tengan una consistencia a través de los años por lo que no es una medida que refleje lo que verdaderamente pasa si se analiza sin tener en cuenta otros factores externos como ser las temperaturas y precipitaciones así como las densidades del hospedador.

Variación de las abundancias parasitarias en función del clima y características del hospedador

Variables climáticas

Las distribuciones de los parásitos está directamente influenciadas por las condiciones ambientales como la temperatura y las precipitaciones (Brooker *et al.* 2006, Guernier *et al.* 2004). Incluso para parásitos de ciclo indirecto, por lo general el desarrollo de los parásitos se ve favorecido cuando la temperatura del ambiente aumenta hasta llegar a un máximo a partir del cual la mortalidad es elevada (Pascual y Dobson 2005). En un estudio con *Microcebus murinus* encontraron que tanto la riqueza de parásitos gastrointestinales como la abundancia fueron mayores en las estaciones más cálidas y húmedas (Raharivololona y Ganzhorn 2010). Del mismo modo, la prevalencia de parásitos gastrointestinales fue mayor en *Eulemur flavifrons* durante la estación húmeda y cálida (Schwitzer *et al.* 2010). Este patrón es válido también para la prevalencia e intensidades de varios nematodos tricostrongílicos en ganado doméstico (Valle *et al.* 1978; Pato Rivero 2011). Las temperaturas más cálidas, en particular, contribuyen a una multiplicación más rápido y períodos más largos de transmisibilidad de los parásitos con estadíos y reservorios en el ambiente. Por lo tanto, sería de esperar tasas de mayor riqueza de especies de parásito y aumento de las infecciones con temperaturas crecientes (Allen *et al.* 2002; Hoberg *et al.* 2008; Larsen y Roepstorff 1999). Sin embargo, esta tendencia no es así para todas las especies de parásitos. Por ejemplo, algunos helmintos, como *Enterobius* spp. prefieren temperaturas más frías y expiran en temperaturas muy cálidas (Caldwell 1982). Las larvas de *H. contortus* no resisten la desecación ni las bajas temperaturas. Por su parte, los huevos de *Nematodirus* spp. resisten bien la desecación, pero necesitan un cierto aporte hídrico para que las larvas eclosionen.

Las precipitaciones también son importantes para considerar en las dinámicas parasitarias. Froeschke *et al.* (2010) encontraron una correlación significativa y positiva entre la precipitación media anual y la infestación de nematodos. Muchos parásitos requieren agua o condiciones de humedad para completar su ciclo de vida (Guernier *et al.* 2004), por lo tanto se ven favorecidos con el incremento de las precipitaciones. Muchos helmintos producen huevos frágiles que no pueden soportar condiciones áridas (Roberts y Janovy 2000), por lo tanto los climas más secos pueden interferir con el desarrollo de sus huevos. Las lluvias estacionales a su vez, pueden crear microhábitats para larvas de parásitos y protozoos y pueden extender la duración de las etapas en el ambiente al retrasar la desecación de las formas evolutivas (Nunn y Altizer 2006). Sin embargo, algunos parásitos son capaces de entrar en un estado de hipobiosis durante los períodos climáticos adversos (Brooker *et al.* 2006).

Por lo tanto, es importante entender los efectos únicos de temperatura y precipitación sobre cada especie de parásito en particular ya que varían según el estadio del parásito y la duración de su ciclo de vida. Por ejemplo en este trabajo se observó que a mayores temperaturas pasadas hubo luego períodos con mayores abundancias de coccidios y tricostrongiloides. Sin embargo, para el caso de *E. hydrochoeri* y *Monoecocetus* spp. se observaron mayores abundancias luego de meses fríos. Con relación a las precipitaciones hubo una asociación positiva con la abundancia de *E. hydrochoeri* pero fue negativa con las abundancias de la superfamilia Trichostrongyloidea. La lluvia actúa sobre la traslación de las larvas a los pastos y favorece la desintegración fecal (Cordero del Campillo *et al.* 1999). Sin embargo, elevada precipitación también puede ser no favorable debido a que puede lavar los huevos y las larvas de las pasturas y evitar que sean ingeridas por el hospedador.

Estas diferencias en las asociaciones encontradas entre las especies de parásitos y las variables climáticas pueden estar explicadas en parte por los ciclos complejos que poseen dichos parásitos, los cuales requieren de condiciones específicas para el desarrollo de sus formas infectantes que difieren entre las distintas especies.

Factores del hospedador

Tanto la condición de los individuos como la edad son factores que afectan la susceptibilidad a la infección de los hospedadores (Beldomenico y Begon 2010). Esta relación está determinada principalmente por la respuesta inmune del hospedador (Cattadori *et al.* 2005), ya que, animales más jóvenes poseen menos experiencia inmunológica. La condición de los hospedadores muchas veces se ve reducida a altas densidades por competencias intra-específica por los recursos. Estudios con roedores han demostrado este fenómeno (Huitu *et al.* 2007). A altas densidades los roedores poseen limitados sus recursos, lo cual produce un impacto negativo en su condición fisiológica (Huitu *et al.* 2007; Beldomenico *et al.* 2008). Y esta condición empobrecida predispone a los individuos no sólo a la infección y sino también a mayores intensidad (Beldomenico y Begon 2010). Por otra parte, a mayores densidades del hospedador también se aumentan las posibilidades de transmisión de los parásitos ya que se aumentan las chances de encuentro entre estadios infectantes y el hospedador (Villar 2006).

Para coccidios, superfamilia Trichostrongyloidea y *Monoecocestus* spp. se encontró una asociación negativa y significativa con el LT estimado, o sea que individuos más pequeños o sea de menor edad, presentaron mayores abundancias de estos parásitos. Es ampliamente conocida la hipótesis que propone que la inmunidad adquirida se desarrolla con la exposición acumulada a la infección y consecuentemente predice una relación negativa entre intensidad y la edad del hospedador. El hecho de haber encontrado mayores abundancias en los individuos más jóvenes y que justamente los carpinchos comienzan a pastorear desde muy temprana edad, por ende pueden ingerir los estadios infectantes de los parásitos, la hipótesis inmunidad adquirida-edad podría estar explicando la asociación encontrada entre estos parásitos y el LT de los carpincho.

Con la variable densidad del hospedador hubo asociaciones positivas y negativas dependiendo la especie de parásito. Coccidios, *E. hydrochoeri* y *Monoecocestus* spp. tuvieron una relación negativa con la densidad, es decir a menores densidades pasadas, se encontraron luego mayores abundancias de formas infectantes. En cambio con Trichostrongyloides si se observó lo esperado, a mayores densidades pasadas del hospedador, luego se reportaron más huevos en las heces. Varios modelos epidemiológicos predicen una relación positiva entre la densidad de la población del hospedador y la abundancia de macroparásitos de transmisión directa. Arneberg *et al.* (1998) a partir del estudio de 9 sistemas distintos hospedador-nematodos gastrointestinales de mamíferos, encontraron en todos ellos una fuerte y positiva correlación entre la densidad del hospedador y la intensidad de los parásitos. Estos autores generaron así una gran evidencia de que la tasa de transmisión de parásito aumenta con la densidad del hospedador. Lo cual puede ser explicado por un lado porque aumentan las chances de encuentro entre formas infectivas y los hospedadores y por el otro debido al círculo vicioso infección-condición (Beldomenico y Begon 2010): a mayores densidades del hospedador, estos se vuelven más susceptibles tanto a la infección como la intensidad de la misma, debido a su menor condición y por ende se facilita la transmisión.

Posibles explicaciones a las asociaciones negativas encontradas entre algunos grupos de parásitos y la densidad del hospedador podrían ser las siguientes: i- Por un lado, los huevos de *Monoecocestus* spp. y *E. hydrochoeris* no tienen una alta correlación con la carga interna de los parásitos adultos por lo que estas asociaciones podrían cambiar si se realizaran estudios con la carga interna y no sólo a través de los huevos en las heces. ii- Por otro lado, los cestodes son especies de ciclo indirecto, por lo que su abundancia en los carpinchos también depende de la densidad de sus hospedadores intermediarios, que a su vez dependen de otros factores como los climáticos y iii- Los coccidios son parásitos de ciclo corto y su intensidad esta afectada por la edad del hospedador (experiencia inmunológica). La densidad de los carpinchos se calculó por campaña (o sea cada un mes o dos meses durante los años de muestreo). Por lo tanto esa asociación negativa entre densidad del hospedador y carga de coccidios podría darse debido a que en aquellos meses donde se registraron mayores valores de densidad de carpinchos había una mayor proporción de adultos.

Asociaciones parasitarias inter e intraespecíficas

Entre los parásitos investigados encontramos interacciones mayoritariamente positivas/sinérgicas. Este es el caso, no sólo para los tipos de especies de parásitos diferentes (coccidios vs. nematodos) sino también para los parásitos estrechamente relacionados (especies de *Eimeria*). Sin embargo, algunas de estas asociaciones positivas fueron más estables y ubicuas que otras. Las asociaciones entre Viannaiidae y coccidios en carpinchos tuvieron direcciones opuestas en ciertos momentos.

Es sorprendente encontrar asociaciones positivas entre coccidios porque esperábamos que la competencia entre especies estrechamente emparentadas y la respuesta inmune cruzada en su lugar llevara a interacciones antagónicas.

En general, los coccidios *Eimeria* son altamente específicos, y la misma especie de hospedador es parasitada por varias especies de *Eimeria* especializadas (Pakandl 2009). Es posible que no se hayan observado asociaciones negativas entre especies de *Eimeria* porque, en general, cada especie de un ensamble de *Eimeria* ocupa un nicho diferente, que facilita su coexistencia con otra especie de *Eimeria* (Pakandl 2009). En algunas circunstancias, sin embargo, esta competencia puede ocurrir. Por ejemplo, Bertolino (2010) encontró interacciones negativas entre algunas *Eimeria* spp. de conejos de cola de algodón y las atribuyó a la introducción a la comunidad de especies de *Eimeria* competidoras provenientes de otras poblaciones. Las interacciones antagónicas entre especies de *Eimeria* también pueden originarse por una respuesta inmune cruzada, pero no particularmente de componentes de inmunidad adquirida (adaptativa), ya que la infección natural de una especie de *Eimeria* no confiere protección contra otra especie (McDonald y Shirley 2009). De hecho, estudios experimentales encontraron que la infección con una especie de *Eimeria* causó un realce en la eliminación de ooquistes de otras especies inoculadas luego de que una primera infección haya desaparecido (Rose 1975; Shehu y Nowell 1998). Aquí, luego de considerar potenciales variables enmascaradoras en el análisis, se encontró que las asociaciones observadas entre especies de *Eimeria* fueron consistentemente sinérgicas, indicando que las infecciones de alta intensidad por especies de *Eimeria* son más probables en individuos con altas intensidades de infección por otro coccidio. La relación opuesta (antagónica), como se había predicho no fue observada. Se necesitan más estudios que exploren en detalles los mecanismos subyacentes para establecer si esta asociación positiva se debe

a cierta facilitación (detrimento del hospedador, inmunosupresión o compensación inmunológica) o bien por compartir las vías de transmisión o factores de riesgo no controlados en el análisis.

Los helmintos tienen el potencial de alterar las dinámicas de microparásitos coinfectantes tanto limitando el acceso a los recursos o afectando el sistema inmune (Graham 2008). Esto puede resultar en interacciones negativas en el primer caso, o sinérgicas en el segundo. La inhibición mutua entre citoquinas es un mecanismo bien documentado por el que los microparásitos y helmintos pueden interactuar sinérgicamente. Los protozoos estimulan una respuesta Th1 y Th17, mientras que los helmintos inducen respuestas Th2, y las citoquinas que son parte de una respuesta regulan el descenso de aquellas que intervienen en otro tipo de respuesta (Diaz y Allen 2007). Estos trade-offs inmunológicos tienen el potencial de facilitar interacciones sinérgicas, como se ha documentado con algunos sistemas hospedador-parásito (Jolles *et al.* 2008; Pathak *et al.* 2012). Sin embargo, la relación entre nematodos y coccidios en los carpinchos no fue sencilla, se encontraron asociaciones positivas y negativas entre ellos. Las interacciones antagónicas no siguieron un patrón estacional particular (se produjeron en otoño, primavera y verano), pero se encontraron predominantemente en el sexo femenino (cuando dependieron del sexo) o en los años 2010 y 2011 (cuando dependieron del año de muestreo). Es posible que ciertas condiciones (ambientales y / o relacionados con la reproducción) hayan favorecido la aparición de individuos estresados en los cuales, un tipo de parásito proliferó y el otro fue controlado. Como respuesta al estrés, los carpinchos incrementan algunos compartimientos de su sistema inmune, incluyendo eosinófilos, que están asociados con la respuesta Th2 (Eberhardt *et al.* 2013). Como resultado, los carpinchos estresados desarrollan más defensas contra helmintos y así sus cargas de nematodos son menores que las de animales no estresados, pero las intensidades de infección con coccidios son mayores (Eberhardt *et al.* 2013). Los niveles de estrés pueden variar dentro y entre años y pueden depender del sexo del individuo (Beldomenico *et al.* 2008). Por lo tanto los resultados encontrados podrían suponer que bajo estrés, las condiciones favorecen a los coccidios pero perjudican a los helmintos, resultando en una asociación negativa tal como la observada durante ciertos períodos en este estudio. Además del sexo del hospedador, la condición reproductiva también influenciar potencialmente la capacidad de los organismos de montar una respuesta inmune frente a los parásitos (Nordling *et al.* 1998, Ardia *et al.* 2003). Sin embargo los carpinchos en esta zona de estudio no poseen una época reproductiva marcada y se producen apareamientos y nacimientos a lo largo de todo el año.

Recientes estudios experimentales que usaron un antihelmíntico (ivermectina) que suprime nematodos y artrópodos (pero no afecta otros parásitos no blancos) encontraron interacciones negativas entre nematodos y *Eimeira* spp. en roedores silvestres (Pedersen and Antonovics 2013; Knowles *et al.* 2013). En uno de estos experimentos, el antihelmíntico solo tuvo un claro efecto positivo, pero transitorio, sobre una especie de *Eimeira* que comparte el sitio de infección con el nematode dominante (Knowles *et al.* 2013) lo que sugiere la competencia como mecanismo que causa la interacción antagónica y no una mediación inmune, como la que se sugiere en este trabajo. Puede haber por lo tanto, interacciones negativas mediadas por los recursos e interacciones positivas y negativas mediadas por la inmunidad que ocurran al mismo tiempo, añadiendo mayor complejidad a este fenómeno. Dependiendo que interacción domine en cada momento determinaría el efecto neto de la interacción.

Los estudios experimentales ayudan a revelar los mecanismos y las vías que causan las interacciones parasitarias interespecíficas subyacentes. Pero como los sistemas naturales son extremadamente complejos, con hospedadores que albergan cada uno, una rica comunidad de especies de parásitos que interactúan y que están atravesados por historias de vida variables, los efectos netos resultantes son principalmente apreciados con estudios observacionales. Datos empíricos experimentales y observacionales, acompañados de estudios teóricos, son necesarios para arrojar luz al entendimiento de la ocurrencia y las consecuencias de las interacciones interespecíficas entre parásitos coinfectantes. Estos resultados destacan la necesidad de investigar estas interacciones en detalle en este y otros sistemas hospedador-parásito.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este estudio podemos concluir que i-Los parásitos están influenciados por condiciones ambientales externas (temperaturas, precipitaciones) e internas (inmunidad del hospedador, interacciones con parásitos co-infectantes) por lo tanto sus dinámicas son muy complejas y deben tenerse en cuenta numerosos factores para su estudio; ii-Como se pudo observar en este estudio los valores de intensidad y abundancia puntuales por estación muchas veces no son parámetros que tengan una consistencia a través de los años por lo que no es una medida que refleje lo que verdaderamente pasa si se analizan sin tener en cuenta otros factores como ser las temperaturas, precipitaciones, densidades del hospedador, etc. Tanto las prevalencias como las intensidades pueden variar mes a mes dependiendo de estas variables que al no ser constantes, sobre todo en ambientes donde no hay estacionalidad marcada, hace que varíen año a año. iii-los sistemas naturales son extremadamente complejos, con hospedadores que albergan cada uno, una rica comunidad de especies de parásitos que interactúan y que están atravesados por historias de vida variables. Es necesario por lo tanto considerar los distintos tipos de asociaciones interespecíficas entre los parásitos, las cuales pueden jugar un rol importante en la determinación de la estructura de las infracomunidades y de las comunidades componentes de sus hospedadores.

BIBLIOGRAFÍA

- Ardia, D. R., Schat, K. A y Winkler, D.W. (2003). Reproductive effort reduces long-term immune function in breeding tree swallows (*Tachycineta bicolor*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **270**: 1679 – 1683.
- Abbas,A.K., Murphy,K.M., & Sher,A. (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* **383**, 787-793.
- Akaike, H. (1994) A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Autom. Control*.
- Albuquerque,G.R., Berto,B.P., Catenacci,L.S., Nogueira,S.S.d., Nogueira-Filho,S.L., & Lopes,C.W. (2008) Eimerid coccidia from capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in southern Bahia, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* **28**, 323-328.
- Allekote,R. (2003) La cria del carpincho. *Buenos Aires.Ediciones INTA-128 pág.*
- 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.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2009) The vicious circle and infection intensity: The case of *Trypanosoma microti* in field vole populations. *Epidemics* **1**, 162-167.

Beldomenico, P.M. & Begon, M. (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol. Evol.* **25**, 21-27.

Bertolino, S., Hofmannova, L., Girardello, M., & Modry, D. (2010) Richness, origin and structure of an *Eimeria* community in a population of Eastern cottontail (*Sylvilagus floridanus*) introduced into Italy. *Parasitology* **137**, 1179-1186.

Blanchet, S., Méjean, L., Bourque, J.F., Lek, S., Thomas, F., Marcogliese, D.J., Dodson, J.J., & Loot, G. (2009) Why do parasitized hosts look different? Resolving the "chicken-egg" dilemma. *Oecologia* **160**, 37-47.

Bolkovic, M.; Quintana y J. E. Rabinovich. Tasa de defecación del carpincho (*Hydrochaeris hydrochaeris*). Resúmenes XVIII Jornadas Argentinas de Mastozoología . 2003. La Rioja, Argentina.

Bolkovic, M. L. D., Ramadori, D., Gargiulo, C., del Rosso, F., and Vázquez, A. Relevamiento de carpinchos (*Hydrochaeris hydrochaeris*) en la Reserva de la Biosfera Laguna Oca (RBLO) del Río Paraguay, Formosa. Resúmenes II Reunión Binacional de Ecología - XXI Reunión Argentina de Ecología - XI Reunión de la Sociedad de Ecología de Chile , 224. 2004. Mendoza, Argentina.

Bolkovic M.L., Eberhardt M.A.T., Li Puma M.C. "Variaciones individuales en la morfología de heces de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*)", presentado en las XXIII Jornadas Argentinas de Mastozoología desarrolladas en la ciudad de Bahía Blanca, Bs As., del 9 al 12 de noviembre de 2010. Modalidad póster. Expositor. (Programa: <http://www.sarem2010.com.ar/PROGRAMA%20XXIIIJAM.pdf>)

Bonuti, M.R., do Nascimento, A.A., Mapelli, E.B., & Arantes, I.G. (2002) Helmintos gastrintestinais de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) na sub-região de Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias* **23**, 57-62.

Casas, M.C., Duszynski, D.W., & Zalles, L.M. (1995) Three new eimerians in capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) populations from Eastern Bolivia and Southern Venezuela. *The Journal of parasitology* 247-251.

Cattadori, I.M., Boag, B., Bjornstad, O.N., Cornell, S.J., & Hudson, P.J. (2005) Peak shift and epidemiology in a seasonal host-nematode system. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **272**, 1163-1169.

Cattadori, I.M., Albert, R., & Boag, B. (2007) Variation in host susceptibility and infectiousness generated by co-infection: the myxoma-*Trichostrongylus retortaeformis* case in wild rabbits. *Journal of the Royal Society Interface* **4**, 831-840.

Corriale, M.J., Milano, A.M.F., Gómez-Muñoz, M.A., & Herrera, E.A. (2011) Prevalence of gastrointestinal parasites in a natural population of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, in Esteros del Iberá (Argentina). *Órgano oficial de la Federación Latinoamericana de Parasitólogos y de la Sociedad Española de Parasitología* 189.

Corriale, M.J., Orozco, M.a.M., & Jiménez Perez, I. (2013) Parámetros poblacionales y estado sanitario de Carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. *Mastozoología neotropical* **20**, 31-45.

- Costa, S.A. Diagnóstico coproparasitológico en carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en cautiverio: su potencial utilización para estudios eco-epidemiológicos. (Facultad de Ciencias Veterinarias-UNCPBA). 2011.
- Cox, D. D. and Todd, A. C. Survey of gastrointestinal parasitism in Wisconsin dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 141, 706-709. 1962.
- Cox, F.G. (2001) Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology* **122**, S23-S38.
- Coyla Gallegos, W. Proyectos Demostrativos de Crianza de Suri en el Perú . PELT - APECO, Puno, Perú. 2003.
- Dawson, D. (2005) Foodborne protozoan parasites. *International journal of food microbiology* **103**, 207-227.
- Dickensheets, H.L. & Donnelly, R.P. (1997) IFN-gamma and IL-10 inhibit induction of IL-1 receptor type I and type II gene expression by IL-4 and IL-13 in human monocytes. *The Journal of Immunology* **159**, 6226-6233.
- Díaz, A. & Allen, J.E. (2007) Mapping immune response profiles: the emerging scenario from helminth immunology. *European journal of immunology* **37**, 3319-3326.
- Eberhardt, A.T., Costa, S.A., Marini, M.R., Racca, A., Baldi, C.J., Robles, M.R., Moreno, P.G., & Beldomenico, P.M. (2013) Parasitism and physiological trade-offs in stressed capybaras. *PloS one* **8**, e70382.
- Ezenwa, V.O. & Jolles, A.E. (2011) From host immunity to pathogen invasion: the effects of helminth coinfection on the dynamics of microparasites. *Integrative and comparative biology* **51**, 540-551.
- Graham, A.L., Cattadori, I.M., Lloyd-Smith, J.O., Ferrari, M.J., & Björnstad, O.N. (2007) Transmission consequences of coinfection: cytokines writ large? *Trends in parasitology* **23**, 284-291.
- Graham, A.L. (2008) Ecological rules governing helminth-microparasite coinfection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 566-570.
- Gurgel, A.C., Dos Santos Sartori, A., & Pacheco de Araújo, F. (2007) Eimeriosis in capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Parasitología latinoamericana* **62**, 76-78.
- Hellard, E.o., Pontier, D., Sauvage, F., Poulet, H., & Fouchet, D. (2012) True versus false parasite interactions: a robust method to take risk factors into account and its application to feline viruses. *PloS one* **7**, e29618.
- Hudson, P.J., Dobson, A.P., & Newborn, D. (1998) Prevention of population cycles by parasite removal. *Science* **282**, 2256-2258.
- Irvine, R.J. (2006) Parasites and the dynamics of wild mammal populations. *Animal Science* **82**, 775.
- Jolles, A.E., Ezenwa, V.O., Etienne, R.S., Turner, W.C., & Olf, H. (2008) Interactions between macroparasites and microparasites drive infection patterns in free-ranging African buffalo. *Ecology* **89**, 2239-2250.

Knowles,S.C., Fenton,A., Petchey,O.L., Jones,T.R., Barber,R., & Pedersen,A.B. (2013) Stability of within-host-parasite communities in a wild mammal system. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**.

Lafferty,K.D. (2010) Interacting parasites. *Science(Washington)* **330**, 187-188.

Larner,A., David,M.F., Feldman,G.M., Igarashi,K.I., Hackett,R.H., Webb,D.S., Sweitzer,S.M., Petricoin,E.F., & Finbloom,D.S. (1993) Tyrosine phosphorylation of DNA binding proteins by multiple cytokines. *Science* **261**, 1730-1733.

López-Téllez,M.C., Mandujano,S., & Yánes,G. (2007) Evaluación poblacional del venado cola blanca en un bosque tropical seco de la Mixteca Poblana. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)* **23**, 1-16.

Maizels,R.M., Balic,A., Gomez-Escobar,N., Nair,M., Taylor,M.D., & Allen,J.E. (2004) Helminth parasites-masters of regulation. *Immunological reviews* **201**, 89-116.

McDonald,V. & Shirley,M.W. (2009) Past and future: vaccination against Eimeria. *Parasitology* **136**, 1477-1489.

Michel,A.L., Bengis,R.G., Keet,D.F., Hofmeyr,M., De Klerk,L.M., Cross,P.C., Jolles,A.E., Cooper,D., Whyte,I.J., & Buss,P. (2006) Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: implications and challenges. *Veterinary microbiology* **112**, 91-100.

Mideo,N. (2009) Parasite adaptations to within-host competition. *Trends in parasitology* **25**, 261-268.

Miller,C.M., Smith,N.C., Ikin,R.J., Boulter,N.R., Dalton,J.P., & Donnelly,S. (2009) Immunological interactions between 2 common pathogens, Th1-inducing protozoan *Toxoplasma gondii* and the Th2-inducing helminth *Fasciola hepatica*. *PloS one* **4**, e5692.

Morales,G., Pino,L.A., Graterol,D.o., & Perdomo,L. (1991) Técnica de muestreo para la estimación de la abundancia y la prevalencia de nemátodos parásitos de bovinos. *Rev Cient Fac Cien Vet* **1**.

Moriena,R.A., Ortiz,M.I., Racioppi,O., & Álvarez,J.D. (2012) Fallibility of coprology to differentiate eggs belonging to *Fasciola hepatica* and *Taxorchis schistocotyle* in capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). *Revista Veterinaria* **23**, 147-148.

Neiff,J.J. (1981) Tipificación de los ambientes acuáticos y de interfase del macrosistema Iberá. *Informe preparado para el convenio ICA-CECOAL, Corrientes*.

Neiff,J.J., Poi de Neiff,A.S.G., Acerbi,M., & Corcuera,J. (2005) Situación ambiental en la ecorregión Iberá. *Situación Ambiental Argentina, FVSA, Esteros del Iberá* **7**, 177-184.

Nfon,C., Berhane,Y., Pasick,J., Embury-Hyatt,C., Kobinger,G., Kobasa,D., & Babiuk,S. (2012) Prior infection of chickens with H1N1 or H1N2 avian influenza elicits partial heterologous protection against highly pathogenic H5N1. *PloS one* **7**, e51933.

Nordling, D., Andersson, M., Zohari, S., Gustafsson, L. (1998) Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Proc. R. Soc.* **265**: 1291 – 1298.

Ogden,N.H., Maarouf,A., Barker,I.K., Bigras-Poulin,M., Lindsay,L.R., Morshed,M.G., O'callaghan,C.J., Ramay,F., Waltner-Toews,D., & Charron,D.F. (2006) Climate change and the potential for range expansion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis* in Canada. *International Journal for Parasitology* **36**, 63-70.

- Ojasti J. Estudio biológico del chiguire o capibara. Equinoccio Universidad Simon Bolivar-Academia de Ciencias físicas Matemáticas y Naturales. 2011. Caracas, Venezuela.
- Ortiz, M.a.I. & Rizzello, A.D. (2004) Prevalencia de parásitos intestinales en poblaciones de *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) de la laguna Ibera, provincia de Corrientes. Estado de Avance Universidad del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. *Estado de Avance Universidad del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Resumen* **36**.
- Pakandl, M. (2009) Coccidia of rabbit: a review. *Folia Parasitologica* **56**, 153-166.
- Pathak, A.K., Pelensky, C., Boag, B., & Cattadori, I.M. (2012) Immuno-epidemiology of chronic bacterial and helminth co-infections: Observations from the field and evidence from the laboratory. *International Journal for Parasitology* **42**, 647-655.
- Pedersen, A.B. & Fenton, A. (2007) Emphasizing the ecology in parasite community ecology. *Trends in ecology & evolution* **22**, 133-139.
- Pedersen, A.B. & Greives, T.J. (2008) The interaction of parasites and resources cause crashes in a wild mouse population. *Journal of Animal Ecology* **77**, 370-377.
- Pedersen, A.B. & Antonovics, J. (2013) Anthelmintic treatment alters the parasite community in a wild mouse host. *Biology letters* **9**, 20130205.
- Pino, M. S., Santa Cruz, A.M., Comolli, J.A., Sarmiento, N. and Juan, P. Aspectos morfológicos de *Protozoophaga obesa* Diesing, 1851 en carpincho (*Hydrochaeris hydrochaeris* Linne, 1776), en cautiverio. Mercedes, Corrientes.
- Pinto, G.R.M. (2003) Contagem de fezes como índice de abundância de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*).
- Roberts, M.G. & Grenfell, B.T. (1992) The population dynamics of nematode infections of ruminants: The effect of seasonality in the free-living stages. *Mathematical Medicine and Biology* **9**, 29-41.
- Rose, M.E. (1975) Infections with *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina* in the fowl: effect of previous infection with the heterologous organism on oocyst production. *Parasitology* **70**, 263-271.
- Salas, V. & Herrera, E.A. (2004) Intestinal helminths of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, from Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **99**, 563-566.
- Sarmiento, N.F., Santa Cruz, A.C., González, A.O., González, J.A., & Roux, J.P. (2005) Diagnóstico de endoparásitos de carpincho (*Hydrochaeris hydrochaeris* Linnaeus, 1766) del criadero Ayuí de Santo Tomé, provincia de Corrientes, Argentina. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste* **37**.
- Shehu, K. & Nowell, F. (1998) Cross-reactions between *Eimeria falciformis* and *Eimeria pragensis* in mice induced by trickle infections. *Parasitology* **117**, 457-465.
- Sinkoc, A.L., Brum, F.A., Muller, G., & Brum, J.G.W. (2004) Helminths parasites of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766) na região de Aracatuba, São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo* **71**, 329-333.
- Sinkoc, A.L., Brum, J.G.W., & Muller, G. (2009) Gastrointestinal helminths of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) in Cattle Breeding Farm in the area of the Ecological Reserve of Taim, Rio Grande. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **52**, 327-333.

- Stromberg, B.E. (1997) Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology* **72**, 247-264.
- Telfer, S., Lambin, X., Birtles, R., Beldomenico, P., Burthe, S., Paterson, S., & Begon, M. (2010) Species interactions in a parasite community drive infection risk in a wildlife population. *Science* **330**, 243-246.
- Tinsley, R.C. & Chappell, L.H. (1999) *Parasite adaptation to environmental constraints*. Cambridge University Press.
- Tompkins, D.M. & Begon, M. (1999) Parasites can regulate wildlife populations. *Parasitology Today* **15**, 311-313.
- Ueno, H. & Gutierrez, V. (1988) Manual para diagnóstico de parásitos en rumiantes. *Int. Coop. Ag.* 63-176 pp.
- Ulrich, Y. & Schmid-Hempel, P. (2012) Host modulation of parasite competition in multiple infections. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **279**, 2982-2989.
- Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002) *Modern applied statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0
- Vieira, F., Lima, S., and Bessa, E. Morfología e biometria de ovos e larvas de *Strongyloides* sp. Grassi, 1879 (Rhabditoidea, Strongyloididae) parasito gastrointestinal de *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia, Hydrochaeridae), no município de Juiz de Fora. *Rev. Bras. Parasitol. Vet* **15**(1), 7-12. 2006.
- Vieira, F.M., Bessa, E.C., & Lima, S.S. (2006) Ocorrência de helmintos em *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia, Hydrochaeridae) na Represa de São Pedro, município de Juiz de Fora, MG, a partir do diagnóstico coprológico. *XXIX Semana de Biologia e XII Mostra de Producciao Científica, UFJF*.
- Waller, P.J. & Thamsborg, S.M. (2004) Nematode control in green ruminant production systems. *Trends in parasitology* **20**, 493-497.
- Yazdanbakhsh, M., Kremsner, P.G., & van Ree, R. (2002) Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* **296**, 490-494.
- Ziegler, T.E., Scheffler, G., Wittwer, D.J., Schultz-Darken, N., Snowdon, C.T., & Abbott, D.H. (1996) Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. *Biology of Reproduction* **54**, 91-99.

Capítulo 3

Interacción parásito-hospedador



PARTE 3.1 PARÁMETROS BIOMÉTRICOS Y FISIOLÓGICOS DEL CARPINCHO. ESTUDIO DESCRIPTIVO

INTRODUCCIÓN

Evaluar índices genéricos de salud y parámetros morfométricos en poblaciones silvestres es valioso para conocer sobre la historia natural de las especies y además utilizar esta información en estudios ecoepidemiológicos.

La hematología es una herramienta útil para evaluar dinámicas de salud en animales silvestres (Beldomenico *et al.* 2008). Variaciones en las concentraciones de distintos tipos de células sanguíneas en un animal, así como alteraciones en la morfología de éstas, son indicadoras de estados fisiológicos o patológicos particulares. Por ejemplo, dentro de los distintos tipos de células sanguíneas, los eritrocitos o glóbulos rojos, y los linfocitos, son importantes indicadores de la condición y el “fitness” de los animales. Bajas concentraciones de glóbulos rojos, causadas por pérdidas de sangre, hemólisis o disminución en la producción de los mismos, resultan debido a una deficiente nutrición o a una infección (Stockham y Scott 2002). Por otro lado, los linfocitos, efectores de una inmunidad adquirida, proliferan en respuesta a una estimulación antigénica y poseen vida media larga en la circulación, mientras que su número decrece, linfopenia, durante la inmunosupresión por glucocorticoides o infecciones inmunosupresoras (Feldman *et al.* 2000; Stockham y Scott 2002). Por lo tanto, los niveles circulantes de linfocitos pueden ser indicadores útiles de la inversión inmunológica.

Los leucocitos o glóbulos blancos de mamíferos se clasifican, en general de la siguiente forma: granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos) y agranulocitos (linfocitos y monocitos). Los neutrófilos son los encargados de responder ante injurias a los tejidos e infecciones bacterianas (Tizard 2004). Los basófilos se encuentran en menores concentraciones que los demás leucocitos, poseen gránulos responsables de la síntesis de histamina y serotonina, sustancias que median reacciones de hipersensibilidad. Una importante función de los eosinófilos es destruir parásitos metazoos invasores, también aumentan ante otras parasitosis y alergias mientras que disminuyen por estrés crónico (Tizard 2004). Los linfocitos son las células encargadas de reconocer antígenos extraños y de montar una respuesta inmune adquirida o adaptativa. Los linfocitos B son los encargados de la inmunidad mediada por anticuerpos, mientras que los linfocitos T median la inmunidad celular. Los monocitos actúan ante procesos inflamatorios crónicos causados por bacterias y protozoarios (Feldman *et al.* 2000; Tizard 2004).

En el caso de los carpinchos, el núcleo de los neutrófilos presenta lóbulos y en su citoplasma contienen gránulos eosinofílicos bien marcados, por lo que se los llama “pseudoeosinófilos” o heterófilos (Figura 3c). El tamaño y la distribución de los gránulos es lo que permite diferenciarlos de los verdaderos eosinófilos (Jain 1993; Arouca *et al.* 2000). Por un lado, los neutrófilos presentan gránulos acidofílicos redondos en menores cantidades y su distribución en el citoplasma es más esparcida; mientras que los eosinófilos poseen el citoplasma totalmente ocupado con gránulos más grandes y en mayores cantidades y además son intensamente acidofílicos. Otro tipo celular hallado en carpinchos es la célula de Kurloff (CK) (Jara *et al.* 2005), la cual es una célula mononuclear con presencia de una vacuola citoplasmática monocítica (Eremin *et al.*, 1980a). Si bien el rol de estas

células no está completamente comprendido, en los *Cavia porcellus* (especie en la misma familia que los carpinchos), se ha demostrado que poseen actividad de Natural killer (NK por sus siglas en inglés) (Eremin *et al.*, 1980b; Debout *et al.*, 1984) y propiedades anticancerosas (Debout *et al.*, 1995; Pouliot *et al.*, 1996; Debout *et al.*, 1999). Por la diversidad de funciones específicas de cada tipo celular, el conocimiento de la hematología de carpinchos silvestres es indispensable para interpretar su fisiología y de esta manera poder ser aplicados al estudio de las dinámicas de salud de sus poblaciones.

Las poblaciones de vertebrados silvestres están expuestas a múltiples infecciones y distintas circunstancias antropogénicas que las afectan. Se ha propuesto que la inmunocompetencia es un factor clave en la regulación de las poblaciones silvestres (Lochmiller 1996; Beldomenico and Begon, 2010). Los componentes de la inmunidad innata pueden estar involucrados en la supervivencia de un organismo, ya que participan activamente en la primera resistencia a la infección (Ochsenbein y Zinkernagel 2000). Los anticuerpos Naturales (AcN) son componentes de la inmunidad innata humoral, y son únicos entre las inmunoglobulinas, ya que su producción es constitutiva y no requiere una exposición previa a un antígeno particular (Ochsenbein y Zinkernagel 2000), además su respuesta es menos dependiente del estatus nutricional del animal y de sus niveles de estrés (Deerenberg *et al.* 1997) que la respuesta producida por los anticuerpos adquiridos. A nivel molecular, la gran mayoría de AcN son inmunoglobulinas M (IgM), pero también se han reportado algunas formas de IgG e IgA (Avrameas 1991). Debido a que los AcN confieren una inmunidad innata humoral independiente de la estimulación antigénica y son estables en el tiempo, ellos poseen el potencial de ser buenos indicadores de la inmunocompetencia humoral de especies silvestres. Recientemente, se han usado como indicadores de la inmunidad humoral inespecífica en aves silvestres (e.g. Whiteman *et al.*, 2006; Mendes *et al.*, 2006), y en reptiles (e.g. Sandmeier *et al.*, 2012), y también han sido utilizados sólo en algunos mamíferos silvestres (Gilot-Fromont *et al.*, 2012).

La medición de la masa del bazo también se ha utilizado para estudiar las estrategias de inversión inmunológicas (Møller *et al.* 1998, Shutler, *et al.* 1999, Morand and Poulin 2000, Nunn 2002). Algunos estudios en roedores han encontrado una relación positiva entre carga parasitaria y masa del bazo (Watkins *et al.* 1991, Hõrak *et al.* 2006). Mientras hay algunas evidencias sobre esto en aves (ejemplo Ould *et al.* 1980, Smith and Hunt 2004) y en roedores de laboratorio, hay muy poca evidencia en mamíferos silvestres, por lo que el significado real de la masa del bazo sigue siendo un tema de debate. En carpinchos se ha reportado un aumento de la masa del bazo en animales visiblemente enfermos con *Trypanosoma evansi* (Ojasti 2011).

La correcta evaluación de los valores bioquímicos y hematológicos es importante para monitorear el estado de salud y el diagnóstico de enfermedades (Boes 2010, Aleuy *et al.* 2013). Parámetros como las proteínas totales y las fracciones proteicas son herramientas útiles para evaluar la salud, utilizados en medicina y veterinaria (Weiss y Wardrop 2010). Sin embargo, para interpretar la información que brindan es necesario conocer la normal variabilidad que se encuentran dentro de los individuos de una determinada especie. En el caso del carpincho son escasos los estudios que han reportado los valores de proteínas totales y albúminas, y no se han encontrado en la bibliografía estudios donde se hayan descrito las fracciones proteicas para esta especie.

Uno de los objetivos específicos planteados en esta tesis es identificar las asociaciones parasitarias con la condición de salud y la inmunidad del hospedador, y para ello se necesitan desarrollar técnicas e índices que nos permitan medir dichos parámetros (condición e inmunidad). Teniendo en cuenta esto, el fin de esta parte del capítulo 3, es describir y reportar los resultados obtenidos a partir de cada una de las técnicas y métodos utilizados para medir los parámetros biométricos y fisiológicos de este gran herbívoro sudamericano.

Objetivos específicos:

1. Reportar variables morfométricas y de condición corporal de carpinchos silvestres.
2. Describir la hematología de carpinchos silvestres de la eco-región “Lagunas y Esteros del Iberá”.
3. Reportar las proteínas totales, fracciones proteicas y los niveles de AcN en poblaciones silvestres de carpinchos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y Área de estudio

Los carpinchos utilizados en este estudio fueron sacrificados en la estancia Rincón del Socorro (28° 39' S 57° 25' W), con el permiso de la Dirección de Recursos Naturales de la provincia de Corrientes durante un programa para limitar la superpoblación. Desde agosto de 2010 hasta septiembre de 2012, se autorizó la eutanasia con fines científicos, de tres ejemplares de carpincho por mes (ver capítulo 1). El método utilizado fue disparo en la cabeza con pistola de bala libre. Éste método es considerado un sacrificio efectivo y humanitario, recomendado para grandes mamíferos (World Society for production of Animals).

Rincón del Socorro es una antigua estancia ganadera reconvertida en reserva privada de conservación estricta, comprende 12.000 hectáreas, pertenece a la fundación “The Conservation Land Trust” y está localizada al sur del Macrosistema Iberá (Corrientes, Argentina), dentro de la Reserva Natural Iberá. Esta ecorregión comprende un complejo de ecosistemas con predominio de ambientes palustres (lagunas, esteros y bañados) y ambientes terrestres (pastizales de lomada, bosques paranaenses, chaqueños y del Espinal), único por su diversidad paisajística (Neiff, 2004). En esto influye el emplazamiento del Iberá, en el encuentro de cuatro grandes ecorregiones: la Selva Paranaense, los Campos y Malezales, el Chaco Húmedo y el Espinal. Pero debido a su unicidad, modernamente ha sido promovido a una ecorregión en sí misma: los Esteros del Iberá (Burkart *et al.*, 1999). El clima es subtropical húmedo, con una estacionalidad hídrica y térmica (primaveras y veranos cálidos y lluviosos, inviernos y otoños fríos con menores precipitaciones).

Descripción morfológica, medidas de crecimiento y condición corporal de los carpinchos

Una vez eutanaciado, cada carpincho fue pesado (MC: masa corporal) con una balanza con resorte romana *Pocket* (0.5-100 kg) y se le tomaron las siguientes medidas morfométricas: Largo total (LT), cintura torácica (CT) y largo cabeza (LC). Además se midieron el largo de la pata posterior (LPP), largo y ancho de la mano (LM y AM) y largo y ancho del pie (LP y AP).

Para medir condición corporal se utilizó el índice de condición corporal, el cual fue estimado palpando la grasa y los músculos que cubren dos zonas: 1) las vértebras torácicas y la parrilla costal, y 2) la

región de los huesos pélvicos, entre la tuberosidad isquiática y la cresta ilíaca (Burthe *et al.* 2006). Cada zona se califica en una escala de 1 a 5: 1- esqueleto muy evidente; 2 – esqueleto evidente; 3 – equilibrio entre esqueleto y tejidos superficiales; 4 – esqueleto no tan obvio; 5 – obesidad. Por último ambos números se suman para obtener un único valor por individuo.

Necropsias y toma de muestras

Se comenzó la necropsia incidiendo la piel y disecando los músculos por la línea media del tórax y abdomen, hasta dejar las vísceras al descubierto. Luego se separó el tracto gastrointestinal y se procedió a dividirlo en sus distintas partes anatómicas: estómago, intestino delgado, ciego e intestino grueso (colon y recto), las cuales fueron selladas en sus extremos por ligadura con hilo de algodón, para luego ser procesadas con el fin de obtener parásitos adultos (ver capítulo 3). Luego se extrajo la glándula adrenal derecha para su posterior medición de la capa fascicular (la adrenal izquierda es de menor tamaño y se encuentra encapsulada). Se extrajo además, el bazo entero, el cual fue pesado mediante balanza de precisión marca *Ohaus* modelo *Traveller*. Adicionalmente se tomaron muestras de distintos órganos para estudios histopatológicos y moleculares: corazón, hígado, riñón, pulmón, bazo y linfonódulos mesentéricos.

Medición del sistema inmune y otros parámetros fisiológicos

Las muestras de sangre de los carpinchos silvestres fueron obtenidas inmediatamente luego de ser eutanasiados. Entre 15-20 ml de sangre fueron colectados mediante punción cardíaca y colocados en tubos de polipropileno (DeltaLab, Argentina) con y sin anticoagulante (EDTA 10%, SB, Argentina). Las muestras con anticoagulante fueron refrigeradas y luego procesadas dentro de las 4 horas de la recolección. Las muestras sin anticoagulante fueron centrifugadas para separar el suero. Los sueros fueron almacenadas a -20°C en tubos eppendorf rotulados para su posterior utilización.

Recuento total de células sanguíneas

El recuento de las células sanguíneas es un buen indicador para evaluar la capacidad aeróbica y el balance energético (eritrocitos) y conocer además la inversión inmunológica (leucocitos) que realizan los individuos (Beldomenico *et al.* 2008).

A partir de las muestras de sangre con anticoagulante se realizó el recuento total de glóbulos rojos y glóbulos blancos. La sangre entera fue diluida en PBS 1x 1:10 y luego a partir de esta suspensión se obtuvieron dos diluciones finales: 1:20 con solución de ácido acético glacial al 4% con 0,5% de violeta cristal y 1:200 en PBS 1x, utilizadas para el recuento de eritrocitos y leucocitos, respectivamente. Para tal fin se utilizaron cámaras de Neubauer (Arouca *et al.* 2000; Madella *et al.* 2006).

Para el recuento diferencial de los leucocitos de los carpinchos, se realizaron extendidos de sangre (frotis). En el laboratorio de campo, los frotis fueron fijados y a continuación teñidos durante 6 minutos con la tinción May Grünwald, luego se enjuagó con agua estabilizada durante 2 minutos (1 ml de estabilizador en 50 ml de agua destilada) y por último se teñió con Giemsa por un lapso de 30 minutos (Biopur, Argentina). Una vez finalizada la última etapa, los frotis se enjuagaron con agua corriente y se los dejó secar a temperatura ambiente. El recuento de células se realizó en el laboratorio de Ecología de Enfermedades del ICIVET-UNL-CONICET, sobre un total de 200 glóbulos blancos por muestra.

Determinación de proteínas totales y fracciones proteicas

Se determinó la concentración de proteínas plasmáticas totales (PPT) y albúmina (A) (Rahbek 2007) en muestras séricas provenientes de cada uno de carpinchos silvestres. Se utilizó un analizador automático random access METROLAB 2300 PLUS. Las fracciones proteicas séricas se evaluaron y cuantificaron en un densitómetro automatizado (Genio S, Interlab SRL, Italia) de acuerdo con el procedimiento descrito por el fabricante. Brevemente: a partir de 25 μ l de cada muestra de suero, se separaron las fracciones de proteínas por electroforesis en tira de acetato de celulosa a pH 8,6 utilizando un voltaje constante de 260 V durante 45 min. Luego de la tinción cada fracción de proteína fue cuantificada. Los resultados se obtuvieron utilizando el Software Efolab (Interlab SRL, Italia). Las fracciones analizadas se identificaron manualmente.

Masa esplénica y anticuerpos naturales

Otras medidas de inversión inmunitaria analizadas fueron: i) masa esplénica (peso del bazo) (Ould *et al.* 1980; Hangalapura *et al.* 2005), y ii) títulos de anticuerpos naturales (AcN) (Boulos, Roudsari y Carson 2001; Matson, Ricklefs y Klasing 2005).

La determinación de los títulos de AcN fue realizada por duplicado mediante un ensayo de hemoaglutinación siguiendo el método descrito por Matson *et al.* (2005) con algunas modificaciones. Los AcN tienen una alta reacción cruzada y ligan con baja afinidad a estructuras de carbohidratos compartidos por una gran variedad de patógenos y células de mamíferos (Murphy, 2011). Por este motivo fue necesario obtener una suspensión de glóbulos rojos (GR) de una especie que exprese altos niveles de α -N acetil-galactosamina (Cotter *et al.* 2005) tal como lo es el conejo.

La suspensión de GR de conejo se preparó a partir de sangre entera anticoagulada con EDTA, la cual fue centrifugada a 4000 rpm durante 5 minutos. Los glóbulos rojos se lavaron tres veces con 0,01 M de buffer fosfato salino (PBS 1x) y se ajustó a una concentración final de células de 1,2 %. La suspensión de GR fue utilizada durante un periodo no mayor a 24 horas y almacenada a 4°C.

El ensayo de hemoaglutinación fue realizado en microplacas de 96 pocillos con fondo en forma de U (DELTALab) y se procedió de la siguiente manera: 25 μ l de PBS 1x fueron agregados a los pocillos de la columna 2 a la 11 y luego 25 μ l de cada muestra de suero o plasma se añadieron a las columnas uno y dos. Posteriormente se hicieron diluciones seriadas al medio en PBS mediante la transferencia de 25 μ l con un microdiluidor de un pocillo al consecutivo empezando por la columna dos y hasta la 11, dejando así el pocillo 12 como control negativo (PBS solo). Una vez realizadas las diluciones correspondientes se agregaron a todos los pocillos 25 μ l de la suspensión de GR de conejo homogeneizada. Luego se agitaron las placas mecánicamente por algunos segundos y se incubaron por el plazo de 2 horas a temperatura ambiente. La aglutinación resultó de la acción de los AcN. El título fue registrado como \log_2 de la última dilución en la que se evidenció claramente aglutinación. Esta determinación se realizó utilizando principalmente las muestras de suero, y sólo cuando éstos no fueron suficientes para réplicas o cuando no se pudieron obtener muestras de suero se utilizó plasma. Sin embargo, no hay diferencias observadas en los títulos de aglutinación cuando se compararon muestras de suero y plasma del mismo individuo.

Análisis estadísticos

Para comparar si hubo diferencias significativas entre sexos y entre hembras preñadas y no preñadas se usaron regresiones lineales. Cuando fue apropiado se transformó mediante exponenciación la variable respuesta para aproximarla a la normalidad. Se utilizó el software estadístico R.

RESULTADOS

Descripción morfológica y medidas de condición corporal de los carpinchos

De un total de 72 carpinchos silvestres estudiados 69 pudieron ser medidos y pesados. De los cuales 35 fueron hembras y 34 fueron machos.

En la tabla 1 se pueden observar los promedios, los valores máximo y mínimo y el desvío estándar de las siguientes medidas morfométricas: LT, LC, CT, LPP, LM, AM, LP, AP, de los carpinchos silvestres. Del total de las hembras, teniendo en cuenta su masa corporal, sólo una se clasificó como subadulta (27 kg) y todas las demás fueron adultas, de más de 35 kg (Ojasti 2011). No hubo diferencias significativas entre sexos para ninguna de las medidas morfométricas tomadas.

La hembra con mayor masa corporal (76 kg) estaba preñada y tenía en su interior 5 fetos con un estadio de desarrollo perteneciente al 3/3 de gestación (los fetos presentan pelos en todo el cuerpo, Moreira *et al.* 2013), luego de la necropsia se pesó el contenido intrauterino, el cual pesó 8 kg. En promedio las hembras preñadas tuvieron una masa corporal de 59.67 kg y las no preñadas 51.04 kg. (Tabla 1). El largo total promedio es de 119.9 cm y de 123.5 para las hembras preñadas y no preñadas respectivamente. El largo total máximo y mínimo se observó en hembras no preñadas (133.5 cm y 101 cm respectivamente). El 60 % de las hembras sacrificadas (n=21) se encontraba preñada. En todos los meses del año, excepto mayo y junio, se reportaron hembras preñadas con fetos en distintos estadios de desarrollo.

La masa corporal de los machos fue en promedio de 56.28 kg (DE=7.75 Kg.), la cual fue menor a la de las hembras preñadas y mayor a la de las hembras no preñadas. La mayor masa corporal registrada en los machos fue de 70 kg y la menor fue de 41 kg. El largo total máximo medido en un macho fue 146 cm, siendo superior al largo total máximo de a ambos grupos de hembras.

Variable	Machos				Hembras no preñadas				Hembras preñadas			
	Media	Max	Min	DE	Media	Max	Min	DE	Media	Max	Min	DE
MC	56.28	70	41	7.75	51.04	66	27	12.29	59.67	76	49	7.41
LT	125.13	146	110.5	8.18	119.89	133.50	101	10.08	123.50	130	113.5	4.84
LC	27.47	34	23	2.28	25.36	29	19	2.77	26.79	29	23.5	1.47
CT	85.33	97	75	5.06	80.75	92.5	65	7.77	86.69	95	80	4.21
LPP	22.11	25	19	1.61	20.86	24	18	1.65	20.53	23	19	1.23
LM	7.60	10.5	6	1.06	6.93	8	5	0.96	6.89	8.7	5.5	0.90
AM	7.18	9.5	6	0.77	6.89	8.5	5.5	0.88	6.73	8	6	0.52
PL	8.68	12.5	7	1.18	7.92	9.5	6	1.06	8.02	10.8	6	1.18
PA	7.74	10	6	0.91	6.92	8	5.5	0.84	7.30	8	6.5	0.42

Tabla1. MC: masa corporal (Kg) y medidas morfométricas (cm) de carpinchos silvestres de los Esteros el Iberá. LT: largo total; LC: largo cabeza; CT: cintura torácica; LPP: largo pata posterior; LM: largo mano; AM: ancho mano; LP: largo pie; AP: ancho pie.

Se encontró una significativa asociación entre la masa corporal y el largo total ($R^2=0.621$, $p<0.001$) (Figura 1). Teniendo en cuenta sólo los machos la relación fue mayor ($R^2= 0.71$, $p<0.001$) que la de las hembras ($R^2= 0.676$, $p<0.001$).

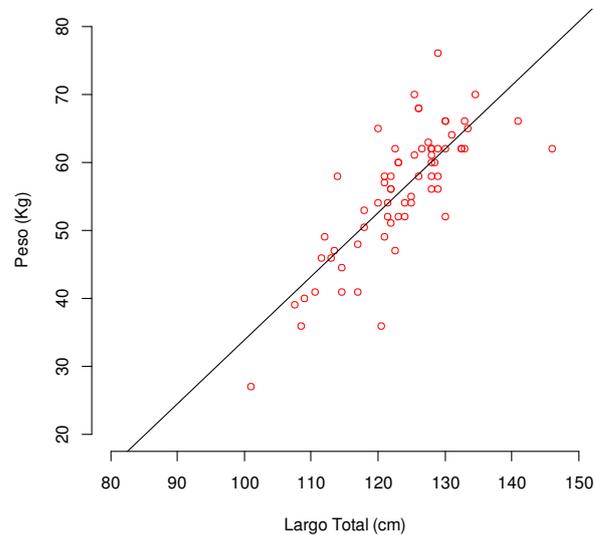


Figura 1. Relación entre las variables masa corporal (kg) y el largo total (cm) de los carpinchos silvestres pertenecientes a la población de los Esteros del Iberá, Corrientes.

Condición corporal

No se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras ($p=0.22$) (Figura 2). En promedio, las hembras tuvieron una condición corporal igual a 5.74 (DE: 1.29) y los machos de 6.06 (DE: 0.76) de un total máximo de 10. La condición máxima para ambos fue de 8 y la menor condición la registró una hembra y fue igual a 2, mientras que el menor valor para los machos fue igual a 5 (Figura 2).

Células sanguíneas

En la tabla 2, se pueden observar los valores promedios y el rango de las distintas células sanguíneas y en la figura 3 una foto tipo de cada una de ellas. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre sexos con respecto a la cuantificación de los glóbulos blancos y rojos. Sin embargo, los valores del grupo de las hembras fueron mayores al de los machos. Los linfocitos fueron los glóbulos blancos más frecuentes en la sangre periférica (Tabla 2), seguidos por los neutrófilos (Figura 3).

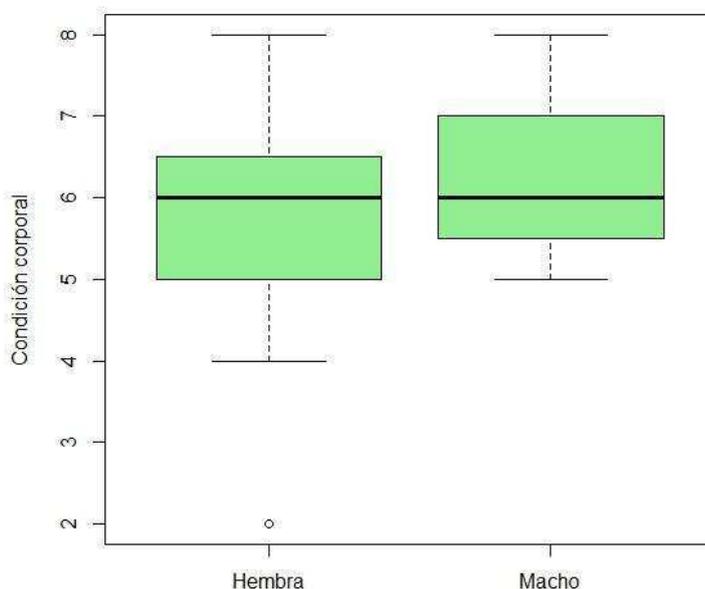


Figura 2. Diagrama de cajas mostrando la relación entre condición corporal y el sexo de los carpinchos silvestres pertenecientes a la población de los Esteros del Iberá, Corrientes. El diagrama de cajas representa la mediana (barra negra), 25-75% cuartiles (caja), 10-90% cuantiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

Con respecto a los valores de las células mononucleares, linfocitos y monocitos (Figura 4), las hembras no difirieron significativamente de los machos ($p=0.077$ y $p=0.0812$ respectivamente) pero registraron una tendencia a tener valores más elevados (Figura 4). Las hembras presentaron mayor prevalencia (machos 45% y hembras 72%) y mayores recuentos de células de Kurloff que los machos ($p= 0.0035$) (Tabla 3; Figura 5). No se encontraron diferencias significativas entre sexos para el resto de las células sanguíneas. Cuando los grupos de hembras preñadas y no preñadas fueron analizados, se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. Las hembras preñadas tuvieron mayores valores de monocitos ($p= 0.00396$) y células de Kurloff ($p= 0.0429$) que las no preñadas (Tabla 3; Figura 5). No se encontraron diferencias significativas entre sexos con respecto a las células polimorfonucleares: neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Parámetros hematológicos	Población total estudiada	Machos	Hembras	Hembras Preñadas	Hembras no preñadas
	Media (Rango)	Media (Rango)	Media (Rango)	Media (Rango)	Media (Rango)
Proteínas totales (g/dl)	6.47 (4.26,7.90)	6.36 (4.26,7.80)	6.57 (4.70,7.90)	6.54 (4.70,7.90)	6.56 (4.95,7.80)
Albumina (g/dl)	2.96 (2.2,4.00)	2.88 (2.20,4.00)	3.04 (2.20,3.70)	3.07 (2.20,3.70)	2.97 (2.29,3.70)
Alpha-1 globulina (g/dl)	0.05 (0.00, 0.10)	0.05 (0.00,0.10)	0.06 (0.00,0.10)	0.06 (0.00,0.10)	0.07 (0.00,0.10)
Alpha-2 globulina (g/dl)	0.79 (0.25,1.20)	0.77 (0.30,1.20)	0.85 (0.25,1.10)	0.84 (0.50,1.10)	0.76 (0.25,1.00)
Beta globulina (g/dl)	1.05 (0.50,2.00)	1.08 (0.50,2.00)	1.02 (0.68,1.60)	1.02 (0.70,1.50)	0.99 (0.68,1.60)
Gamma globulina (g/dl)	1.66 (0.80, 3.70)	1.68 (0.90,3.70)	1.63 (0.80,3.50)	1.51 (0.95,2.20)	1.80 (0.80,3.50)
GR (millones de células/ μ l)	4.92 (1.46, 12.38)	4.65 (1.82,7.24)	5.24 (1.46,12.38)	5.01 (3.06,6.62)	5.51 (1.46,12.38)
GB (miles de células/ μ l)	7.81 (1.60, 18.65)	7.12 (1.60,13.15)	8.60 (2.95,18.65)	9.06 (3.60,18.65)	8.07 (2.95,14.35)
L (miles de células/ μ l)	5.67 (1.26- 15.93)	5.07 (1.26,10.56)	6.37 (2.12,15.93)	6.52 (2.21,15.93)	6.20 (2.13,10.34)
N (miles de células/ μ l)	1.37 (0.06,4.60)	1.40 (0.06,4.60)	1.33 (0.15,3.07)	1.49 (0.51,3.07)	1.15 (0.15,2.66)
E (células/ μ l)	375 (15,1202)	370 (16,1202)	381 (15,1160)	418 (113,1160)	339 (15,1055)
B (células / μ l)	51 (0,283)	42 (0,283)	62 (0,272)	60 (0,272)	66 (0,252)
M (células / μ l)	267 (0,1165)	210 (0, 1068)	332 (0, 1165)	403 (36,1165)	250 (0,971)
CK (células/ μ l)	72 (0,904)	21 (0,109)	129 (0,904)	191 (0,904)	57 (0,389)
Masa del bazo (g)	112.9 (53.3,164.2)	115.7 (57.1,164.2)	109.8 (53.3-161.6)	124.8 (85.6,124.8)	92.4 (53.3,161.6)

Tabla 2. Parámetros hematológicos de carpinchos silvestres pertenecientes a la población de los Esteros del Iberá, Corrientes (N=67).

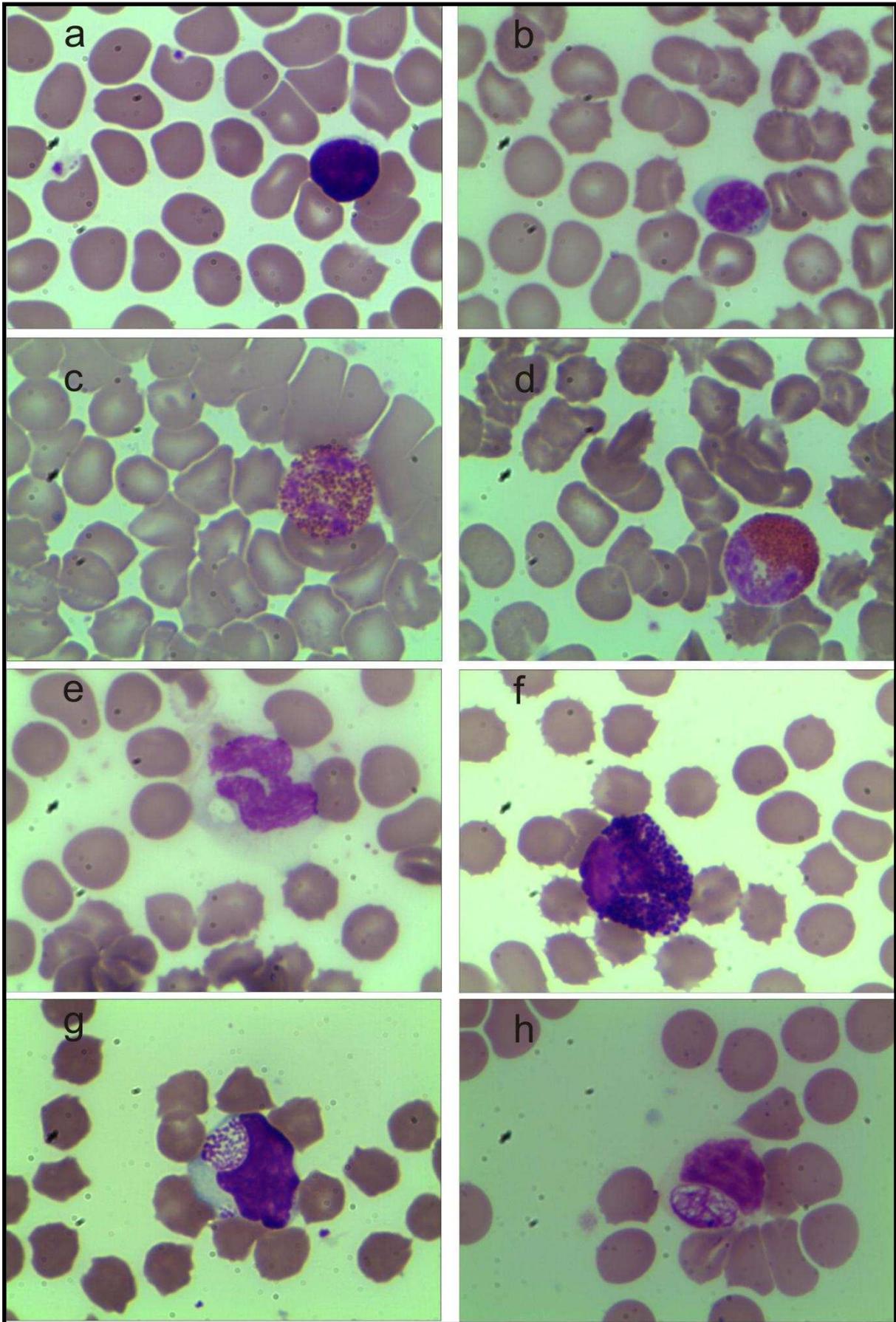


Figura 3. Células sanguíneas presentes en la sangre periférica de *Hydrochoerus hydrochoeris*: Linfocitos (a y b); Neutrófilo (c); Eosinófilo (d); Monocito (e); Basófilo (f) y Células de Kurloff (g y h).

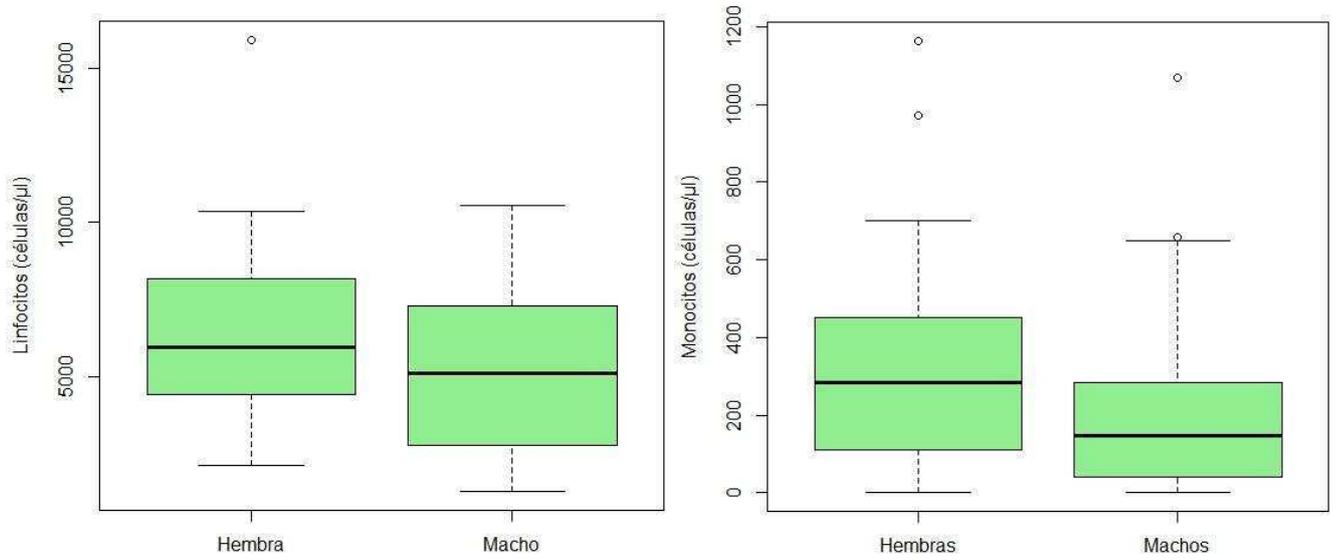


Figura 4. Diagrama de cajas que muestran la relación entre Linfocitos (izquierda) y Monocitos (derecha) y el sexo de los carpinchos. El diagrama de cajas representa la mediana (barra negra), 25-75% cuartiles (caja), 10-90% cuantiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

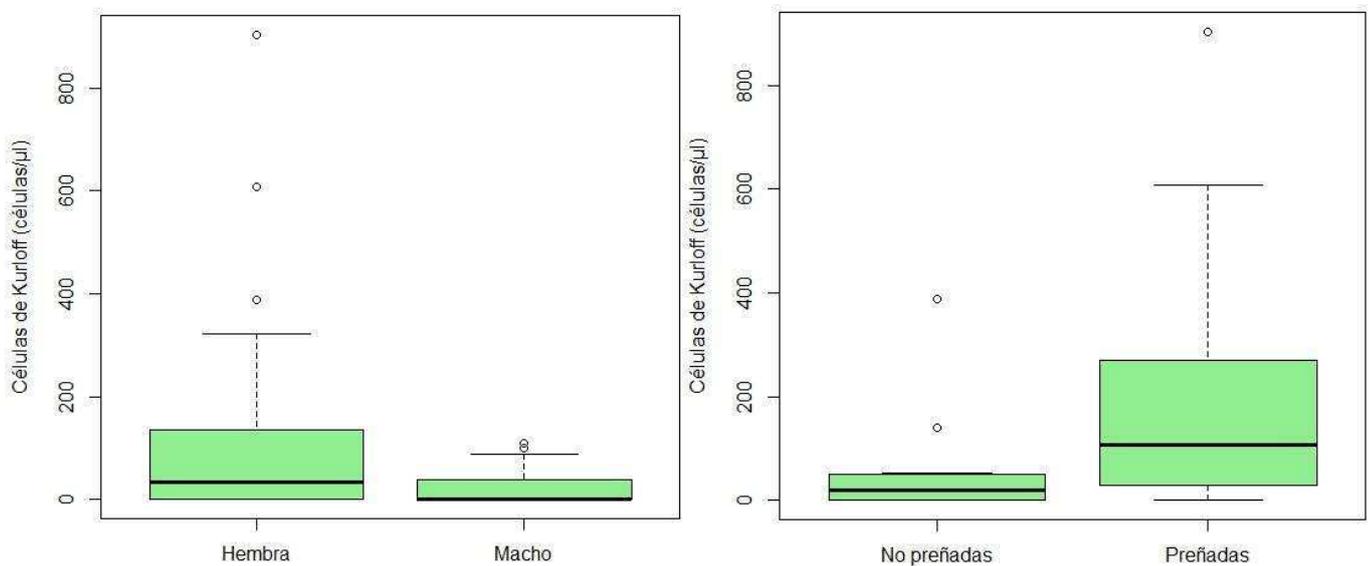


Figura 5. Diagrama de cajas que muestran la relación entre las células de Kurloff y el sexo de los carpinchos (izquierda) y entre las dichas células y las hembras preñadas y no preñadas (derecha). El diagrama de cajas representa la mediana (barra negra), 25-75% cuartiles (caja), 10-90% cuantiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

Respuesta= células de Kurloff			
Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor ^b
Intercepto	4.8235	0.4208	< 0.001
Sexo: Machos ^a	-1.7309	0.5865	0.0032
Respuesta= células de Kurloff (SÓLO HEMBRAS)			
Intercepto	0.8529	0.1844	< 0.001
Hembras preñadas ^b	0.5449	0.2564	0.0429
Respuesta= Monocitos (SÓLO HEMBRAS)			
Intercepto	7.041	1.089	< 0.001
Hembras preñadas ^b	3.275	1.515	0.0396
Respuesta= Masa del bazo (SÓLO HEMBRAS)			
Intercepto	94.900	6.234	< 0.001
Hembras preñadas	29.934	8.686	0.00165

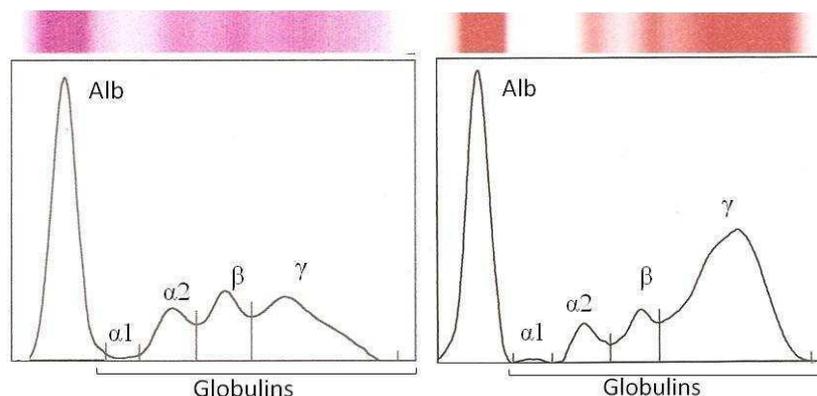
^a Contraste simple – nivel de referencia: Hembras (el coeficiente refleja la comparación con el grupo hembras).

^b Contraste simple – nivel de referencia: Hembras no preñadas (el coeficiente refleja la comparación con el grupo hembras no preñadas).

Tabla 3. Modelos lineales que describen el efecto del sexo o la condición de preñez sobre el recuento de células de Kurloff, monocitos y sobre el peso del bazo, (N=67). Se transformó mediante exponenciación las variables respuestas células de Kurloff y monocitos para aproximarlas a la normalidad.

Proteínas totales y fracciones proteicas

No se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras ni entre hembras preñadas y no preñadas con respecto a las proteínas totales. Las concentraciones de proteínas totales variaron entre 4.26 y 7.90 (g/dl) (Tabla 2). En todos los sueros analizados, la albúmina y las fracciones de las globulinas alpha (α 1-), (α 2-), beta (β -) y gamma (γ -) se observaron claramente (Tabla 2). Sin embargo, la fracción de globulina alpha-1 fue en todas las muestras muy poco notoria (Figura 6). En la figura 6



se Figura 6. Patrón de una electroforesis de proteínas de suero de carpincho silvestre. Izquierda: Proteínas totales y todas las fracciones electroforéticas de un suero con valores medios. Derecha: histograma con la fracción de las gammaglobulinas aumentada.

muestra un proteinograma electroforético en acetato de celulosa y un histograma de dos muestras de suero de los carpinchos estudiados. La albúmina fue fácilmente identificada como una banda gruesa, lo que refleja su alta concentración en suero y la carga eléctrica homogénea y constituyó el 45.99 % de la concentración total de las proteínas séricas (rango: 30.30 – 57.30 %) (Tabla 2). Mientras que las α 1-globulinas constituyeron el 0.80% (rango: 0.00 - 2.20%) y las α 2-globulinas el 12.10% (rango: 4.00

- 17.90%) del total (Tabla 2). Por otra parte, las β -globulinas constituyeron el 15.85% (rango: 1.80 - 29.50%) y la fracción de γ -globulinas el 25.03% (rango: 12.20 - 49.20%) de la concentración total de proteínas. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre sexos y entre hembras preñadas y no preñadas con respecto a los valores de las distintas fracciones proteicas.

Masa del bazo y Anticuerpos Naturales

Los títulos de los AcN en los carpinchos variaron entre 5 y 14 con una media de 8 (Figura 7). No hubo diferencias entre sexo (test de Mann-Whitney; $W = 534$, $p = 0.941$). No se evidenciaron diferencias entre hembras preñadas y hembras no preñadas ($p=0.757$).

No se hallaron diferencias significativas de la masa del bazo entre machos y hembras. Sin embargo las hembras preñadas tuvieron bazos con mayor masa que las no preñadas ($p= 0.0016$) (Tabla 2 y 3).

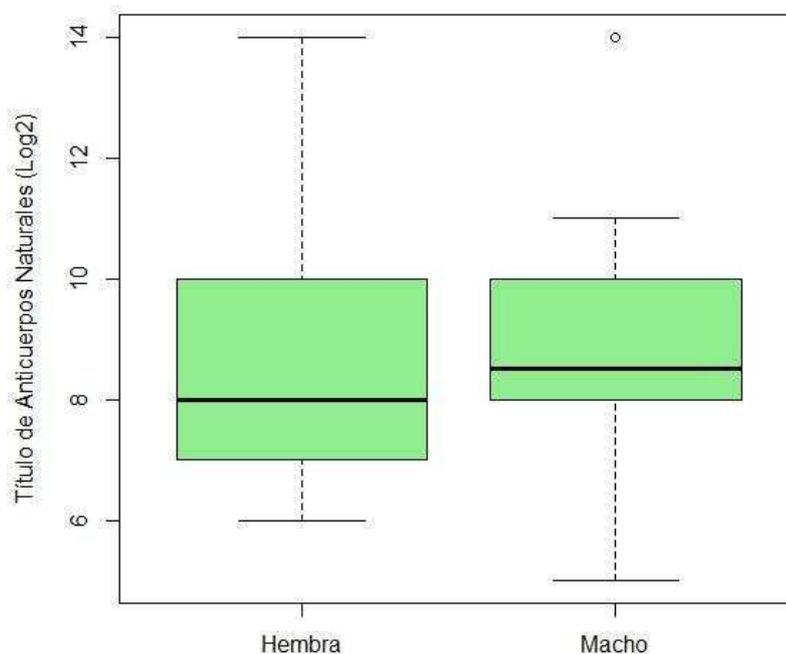


Figura 7. Diagrama de cajas que muestra la relación entre el título de anticuerpos naturales y el sexo de los carpinchos silvestres pertenecientes a la población de los Esteros del Iberá, Corrientes. El diagrama de cajas representa la mediana (barra negra), 25-75% cuartiles (caja), 10-90% cuantiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

DISCUSIÓN

Medidas morfométricas

En general la población de carpinchos adultos estudiada presentó medidas morfométricas promedio similares a las reportadas por otros autores (Moreira *et al.* 2013). Sin embargo se han registrado masas corporales superiores a los rangos registrados en otros trabajos. Por lo general la masa corporal máxima de un adulto no supera los 65 kg (Emmons y Feer 1997; Ojasti 2011; Moreira *et al.* 2013). En esta zona de estudio, Esteros del Iberá, tanto hembras preñadas y no preñadas, como

machos han superado este registro. Las masas corporales de los individuos adultos estudiados oscilaron entre 36 y 76 kg., llegando varios de ellos a pesar más de 65 kg. A su vez, las hembras preñadas tuvieron una masa corporal promedio mayor al de los machos debido al contenido intrauterino el cual ha llegado a pesar hasta 8 kg, dependiendo de la cantidad de fetos y el desarrollo en que se encontraban los mismos. En todos los meses del año, excepto mayo y junio, se reportaron hembras preñadas con fetos en distintos estadios de desarrollo, por lo que se pudo observar que durante todo el año se producen pariciones. Estos resultados coinciden con lo reportado para regiones con características similares donde no hay una estacionalidad marcada y no escasean los recursos (Moreira *et al.* 2013)

Según la bibliografía la longitud total de los carpinchos adultos es superior a un metro y llegarían hasta los 130 cm (Acevedo y Pinella 1961; Ojasti 2011). En este trabajo, con la excepción de una hembra subadulta que midió 101 cm de LT y un macho cuyo LT fue igual a 146 cm, los valores del largo total oscilaron entre 107.5 cm y 134.5 cm. Se observó además una relación significativa entre las medidas LT y peso, sin embargo esta fue mayor para los machos debido a que el contenido intrauterino de las hembras puede aumentar su peso hasta 10 kg (Ojasti 2011), lo que explicaría la mayor variabilidad de las mismas.

Estos mayores valores de la masa corporal y la longitud total de los carpinchos estudiados podrían deberse a las características ambientales propias del lugar que habitan: disponibilidad de recursos (agua y comida) durante todo el año, condiciones climáticas favorables y ausencia de cacería y de grandes depredadores naturales. Estas características permitirían a los individuos tener un mayor crecimiento comparado con otras zonas donde son cazados o poseen depredadores naturales o bien la estación seca es muy marcada.

Condición corporal

El valor medio del índice de condición corporal fue de 5.9. Considerando que dicho índice oscila entre 2 y 10, los resultados indicarían que el estado de los carpinchos es bueno. Por otra parte, al tener en cuenta para su estimación la grasa y músculos que cubren los huesos y no considerar el peso de los individuos como otros índices (Bailey 1968), su valor no es influenciado por el contenido intrauterino de las hembras y permite hacer entonces una comparación entre ambos sexos, pudiendo ser utilizado en cualquier época del año. Esto último es un factor importante para tener en cuenta ya que se registraron hembras preñadas durante casi todo el año.

Células sanguíneas

Los valores hematológicos pueden ser utilizados como referencia para evaluar el estado de salud de los animales. La hematología de los animales silvestres, especialmente los de la fauna argentina, es un campo muy poco explotado, siendo necesarios estudios exhaustivos para que se puedan llegar a niveles adecuados de comprensión de sus particularidades. La hematología del carpincho ha sido poco estudiada y la mayoría de los trabajos existentes en la literatura fueron realizados con animales de cautiverio (e.g. Arouca *et al.* 2000; Van Den Heijden *et al.* 2000; Muñoz y Montoya 2001; Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido 2010) y muy pocos con animales silvestres (e. g. Madella *et al.* 2006; Corriale *et al.* 2013).

El recuento promedio de eritrocitos de la población total fue igual a 4.92×10^6 cel/ μ l, siendo 4.65×10^6 cel/ μ l y 5.24×10^6 cel/ μ l para machos y hembras respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados por otros autores (Madella *et al.* 2006; Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido 2010; Corriale *et al.* 2013) y ligeramente mayores a los reportados en otros trabajos pertenecientes a animales en cautiverio (Arouca *et al.* 2000; Van Den Heijden *et al.* 2000; Garavito 2000; Muñoz y Montoya 2001).

El recuento promedio de leucocitos 7810 cel/ μ l también fue similar a los reportados por Garavito (2000) 7000 cel/ μ l, Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido (2010) 7889.7 cel/ μ l en carpinchos adultos de cautiverio y Corriale *et al.* (2013) 7531 cel/ μ l en carpinchos silvestres. Sin embargo fue mayor a lo encontrado por Madella *et al.* (2006) 5300 cel/ μ l en carpinchos silvestres y por Arouca *et al.* (2000) 4630 cel/ μ l en carpinchos criados en cautiverio. Por otra parte fue menor a los valores reportados por Van Den Heijden *et al.* (2000) 11628,57 cel/ μ l y 10691,89 cel/ μ l para carpinchos con y sin garrapatas. En este estudio las hembras y sobre todo las hembras preñadas tendieron en promedio a tener mayor recuento de glóbulos blancos (8600 cel/ μ l y 9060 cel/ μ l respectivamente). Arouca *et al.* (2000) también reportaron que las hembras tendieron en promedio a tener un mayor número de glóbulos blancos que los machos.

Se encontró que los leucocitos predominantes en el recuento diferencial fueron los linfocitos seguidos por los neutrófilos lo que coincide con lo reportado en otros trabajos donde ambos leucocitos son los más abundantes y dependiendo del estudio o uno o el otro tiene el mayor porcentaje (Arouca *et al.* 2000; Van Den Heijden *et al.* 2000, Muñoz y Montoya 2001; Madella *et al.* 2006; Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido 2010) con excepción del trabajo de Corriale *et al.* (2013), donde los autores reportan un llamativo predominio de eosinófilos. Los neutrófilos de los carpinchos también llamados heterófilos o pseudoeosinófilos, poseen en su citoplasma gránulos muy acidofílicos lo que los hace semejantes a los eosinófilos. Esta característica particular de los neutrófilos y la no correcta identificación y diferenciación de ambos leucocitos podría explicar este aparente predominio de eosinófilos mencionado anteriormente.

Si bien no se obtuvo una diferencia significativa entre machos y hembras con respecto al recuento de linfocitos, se observó una tendencia en las hembras tanto preñadas como no preñadas a registrar valores más elevados que los machos. Esta tendencia también fue observada en carpinchos de cautiverio por Arouca *et al.* (2000). El número promedio de linfocitos hallado en este estudio (5007 cel/ μ l, 6200 cel/ μ l y 6520 cel/ μ l para machos, hembras preñadas y no preñadas respectivamente) fue muy superior a lo reportado por los trabajos antes mencionados (valores promedios entre 3000 cel/ μ l y 3200 cel/ μ l) con excepción del trabajo de Van der Heijden *et al.* (2000). Los linfocitos, los efectores de la inmunidad adquirida, proliferan en respuesta a estímulos antigénicos y tienen una larga vida útil en la sangre, mientras que sus números disminuyen (linfopenia) durante la inmunosupresión por los glucocorticoides o infecciones inmunosupresoras (Feldman *et al.* 2000; Stockham & Scott, 2002). Por lo tanto, los niveles circulantes de linfocitos pueden ser indicadores útiles de la inversión inmunológica (Beldomenico *et al.* 2008). Teniendo en cuenta los recuentos de linfocitos obtenidos en este estudio que son mayores a los reportados para carpinchos en cautiverio y silvestres de otras zonas y la gran riqueza e intensidad de parásitos (tanto helmintos como protozoos, ver capítulo 3), que se registraron en estos carpinchos, podría esperarse entonces que constantemente estén invirtiendo recursos en inmunidad por tener una estimulación antigénica permanente y/o una buena condición que les permita esta inmuno-competencia.

Los recuentos promedios de eosinófilos fueron ligeramente superiores a los valores reportados por Arouca *et al.* (2000), Madella *et al.* (2006) y Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido (2010) y muy inferiores a los reportados por Van Den Heijden *et al.* (2000) y Corriale *et al.* (2013). Los eosinófilos generalmente están asociados con las infecciones de helmintos. Por lo tanto los valores obtenidos en nuestro trabajo podrían estar relacionados con la alta carga parasitaria de nematodos encontradas en esta población (ver parte 3, capítulo 3).

Por otra parte, los valores de neutrófilos o heterófilos tanto de hembras como de machos encontrados en esta población de carpinchos son levemente inferiores a los reportados por los autores anteriormente citados con excepción del trabajo de Corriale *et al.* (2013) cuyos valores son muy inferiores a todos los trabajos antes mencionados.

Los valores obtenidos de monocitos son semejantes a los reportados por Corriale *et al.* 2013, quienes trabajaron en la misma área de estudio y por otros autores (Arouca *et al.* 2000; Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido 2010), son inferiores a los reportados por Van Den Heijden *et al.* (2000) y superiores a los obtenidos por Muños y Montoya (2001) y Madella *et al.* (2006). Sin embargo, en este estudio, se registraron diferencias significativas entre las hembras preñadas y no preñadas, estas últimas con menores valores de monocitos. Se observó además, una tendencia en los machos a tener valores inferiores que las hembras. Los monocitos desempeñan un papel importante en el sistema inmune. Ellos tienen la capacidad de diferenciarse en diferentes subconjuntos de macrófagos de tejidos y células dendríticas con funciones específicas. Los monocitos y macrófagos y su progenie de células dendríticas sirven para tres funciones principales en el sistema inmune; fagocitosis, presentación de antígenos y la producción de citoquinas (Woszczek *et al.* 2008). Esas funciones diferentes hacen que los monocitos sean una población celular muy interesante, con una gran influencia en la primera respuesta a los patógenos, así como en la presentación de antígenos, la activación de células T y por lo tanto la respuesta inmune específica.

Varios estudios han puesto de manifiesto que ciertos cambios en la regulación del sistema inmunitario tienen lugar durante el embarazo tanto en humanos como en otros mamíferos (Wegman *et al.* 1993, Raghupathy 1997, Szekeres - Bartho *et al.* 2001, Luppi *et al.* 2002). Estos cambios son necesarios para la supervivencia y el crecimiento del feto, pero al mismo tiempo el sistema inmune necesita mantener una sólida respuesta frente a los patógenos (Luppi *et al.* 2002, Wegman *et al.* 1993). En los mamíferos, una preñez exitosa depende en parte de la adaptación o la regulación del sistema inmunológico de la hembra para evitar el rechazo del embrión. Una modificación en la función de las células T colaboradoras (Th de sus siglas en inglés) y su secreción es un requisito para el establecimiento y mantenimiento del feto. Existe una fuerte evidencia a partir de estudios en humanos y ratones que vinculan embarazo exitoso con el predominio de la inmunidad de tipo Th2. Hay pruebas de que el alto nivel de IL-10 (Th2) influye en la población de monocitos y la activación de monocitos en los seres humanos (Woszczek *et al.* 2008). Estas evidencias demuestran que la activación de los monocitos y granulocitos maternos aumentan durante la preñez y apoya la idea de que durante esta etapa existe una elevación del sistema inmune innato y la supresión del sistema inmune adaptativo (Luppi *et al.* 2002, Moffett-King 2002). Lo expuesto anteriormente podría explicar por qué se ha observado una diferencia entre la cantidad de monocitos encontrados en las hembras preñadas y no preñadas, y por qué las primeras tuvieron mayores recuentos.

Altos recuentos de células de Kurloff se han identificado en la sangre periférica de los carpinchos, predominantemente en las hembras preñadas y bajos recuentos en los otros individuos, tanto machos como hembras no preñadas. Se observó una diferencia significativa entre machos y hembras con respecto a estas células: las hembras en general tuvieron mayores valores que los machos, como se ha reportado en otros trabajos tanto para carpinchos (Jara *et al.* 2005) y cobayos (Revell 1977), ambos roedores histricomorfos, como para otros roedores del género *Microtus* (Mihok 1987; Beldomenico *et al.* 2009) que presentan células análogas a las de Kurloff denominadas azurocitos. Las células de Kurloff pueden ser inducidas con el estrógeno (Ledingham 1940) y además tienen una actividad NK (Eremin *et al.* 1980b) como también tienen otras células asociadas con la preñez en otros mamíferos: los linfocitos granulares grandes en humanos (Iwatania *et al.* 1989) y en roedores, las células NK uterinas (Head 1996) y las células de la glándula metrial granulada (Stewart y Clarke 1999). El hallazgo en este trabajo de los mayores y significativos valores de las células de Kurloff en las hembras preñadas podría suponer que estas células están relacionadas con el normal desarrollo de la preñez como ocurre en humanos y otros roedores.

Por otra parte, el hecho que las células de Kurloff se han encontrado también en machos, como los azurocitos (Beldomenico *et al.* 2009) y que la estimulación inmunológica ha producido un aumento de las células de Kurloff en los cobayos (Revell 1977), sugiere que estas células en los machos estén relacionadas con una respuesta a la infección. Se ha encontrado además una asociación positiva y significativa entre estas células con dos medidas de la condición de los machos: el índice de condición corporal ($p < 0.001$) y el recuento de glóbulos rojos ($p = 0.008$). A mayores valores de ambas variables se contaron más células de Kurloff (datos no detallados).

Las células sanguíneas se ven afectadas por múltiples factores tanto intrínsecos como extrínsecos del individuo, los que podría explicar las diferencias observadas en los valores de las distintas células sanguíneas comparados con los reportados en otros trabajos. Por ejemplo el número de linfocitos puede ser influenciado significativamente por el lugar de la punción sanguínea, por la edad y el sexo del animal y por la actividad muscular (Jain, 1986). Además, situaciones estresantes como la alta densidad, falta de recursos, la presencia de parásitos, tanto protozoos como metazoos, la condición general del animal y su inmunocompetencia son factores que pueden influir en su respuesta inmunitaria y por ende en los recuentos de las células sanguíneas (Jaoeuen 1981, Chapple *et al.* 1991, Beldomenico *et al.* 2008, Beldomenico y Begon 2010).

Proteínas totales y fracciones proteicas

Los valores de proteínas totales y albumina fueron semejantes a los reportados por otros autores tanto para capinchos silvestres como de cautiverio (Arouca *et al.* 2000; Corredor-Matus y Rodríguez-Pulido 2010)

La electroforesis de proteínas es una técnica utilizada para separar las diferentes proteínas del plasma, para determinar sus proporciones relativas en una muestra (Bush, 2004). Si bien no se encontraron diferencias significativas entre sexos, y entre hembras preñadas y no preñadas, sí se obtuvieron por primera vez los valores de las distintas fracciones proteicas para carpinchos silvestres y además se encontró un patrón en todas las muestras analizadas en este estudio: la fracción de globulina alpha-1 fue en todas las muestras insignificante. El patrón de cambios en estas fracciones proteicas es raramente patognomónico o característico de una enfermedad específica. Sin embargo,

puede proporcionar información de diagnóstico cuando se interpreta junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio (Thomas, 2000). Por ejemplo, el incremento de la fracción de gamma-globulina en individuos infectados con *Trypanosoma evansi* fue reportado para camellos, cobayos, caballos, perros y gatos (Boid *et al.* 1980; Monzón y Villavicencio 1990; Romdhane *et al.* 1999; Hosseininejad *et al.* 2007; Costa *et al.* 2010). En este estudio el valor promedio de las gamma-globulinas fue de 1.68, 1.51 y 1.80 dl/g para machos, hembras y hembras preñadas, respectivamente. Sin embargo los valores más elevados reportados en estos individuos, 3.5 y 3.7 dl/g, fueron hallados en carpinchos que presentaron infecciones con *T. evansi* (Eberhardt *et al.* 2014), coincidiendo con lo hallado en otras especies. La asociación entre las gammaglobulinas y la presencia de *T. evansi* fue positiva y significativa ($p = 0.0249$). Los animales con trypanosomiasis se caracterizan frecuentemente por poseer altos niveles de IgM (Taylor and Authié, 2004), los cuales están directamente implicados en el control de las parasitemias y la supervivencia del hospedador (Baral *et al.* 2007). Sin embargo, Uche y Jones (1993) reportaron aumentos de los niveles de IgG e IgM en conejos infectados con *T. evansi*. Por lo tanto, el aumento del nivel de la gamma-globulina observado en el estudio podría ser en parte debido al incremento de los niveles de inmunoglobulinas por la infección por *T. evansi*. Estudios complementarios son necesarios para poder evaluar qué proteínas componen las otras fracciones proteicas, ya que varían según la especie.

Masa del bazo y Anticuerpos Naturales

Durante este trabajo se reportaron por primera vez los valores de anticuerpos naturales para carpinchos silvestres (Racca *et al.* 2013). Si bien no se registraron diferencias significativas entre sexos y entre hembras preñadas y no preñadas, los títulos de AcN fueron mucho mayores a los reportados por ejemplo para otro mamífero como es el guanaco (Racca *et al.* 2013). Si bien no se pueden realizar comparaciones entre niveles de AcN de carpinchos y guanacos, los resultados aquí reportados, además de servir como información basal para la especie, sugieren también la existencia de diferencias importantes en las concentraciones de AcN entre carpinchos y guanacos, independientemente de la causa subyacente (distancia taxonómica, adaptación a los ambientes que habitan o diferencias en la riqueza de la comunidad parasitaria que hospedan).

La técnica de hemoaglutinación que se usó para medir los anticuerpos naturales, si bien es sencilla puede ser aplicada a diferentes especies (Matson *et al.* 2005; Cutrera *et al.* 2010; Racca *et al.* 2013). El uso de una prueba más sensible y específica, como ELISA, requeriría el acceso a anticuerpos específicos para cada especie estudiada. La falta de reactivos inmunológicos disponibles para las especies de animales silvestres es una limitación importante al realizar estudios en ecología de enfermedades y en eco-inmunología.

Por otra parte se ha planteado que la masa del bazo puede ser utilizado como una medida de la inversión inmunológica, bajo el supuesto de que un bazo con mayor masa produce o almacena más linfocitos que un bazo con menor masa (Nunn 2002; Møller *et al.* 1998; Shutler *et al.* 1999), y los linfocitos son un componente importante del sistema inmune. Un bazo de mayor tamaño refleja una mayor inversión en tejido linfoide, lo que es causada principalmente por una estimulación antigénica (Møller *et al.* 1998) o por una mejor condición (i.e. animales en mejores condiciones podrán invertir más en inmunidad por lo tanto, tendrán mayores bazos) (Møller *et al.* 1998). En este estudio se encontró una relación positiva y significativa entre el peso de los carpinchos adultos y el bazo ($p=$

0.019, datos no detallados), pero no hubo ninguna relación con las otras medidas de condición ni diferencias entre sexos. Por otra parte también se encontraron asociaciones positivas y negativas entre algunos helmintos y la masa del bazo (ver capítulo 3), pero éstas no difirieron entre machos y hembras. Sólo se reportó una diferencia significativa del peso del bazo entre hembras preñadas y no preñadas. El hecho de que el estrógeno aumente significativamente los niveles de las células de Kurloff en los compartimentos linfoides (Eremin *et al.* 1980b) podría explicar el aumento del peso del bazo en las hembras preñadas, las cuales también presentaron mayores valores de estas células.

CONCLUSIÓN

A diferencia de los animales domésticos, es difícil trabajar con animales silvestres porque en general se desconocen cuáles son los parámetros morfológicos y fisiológicos “normales”. Además las poblaciones de animales silvestres se ven afectadas por numerosos factores tanto extrínsecos como intrínsecos, es decir están expuestos constantemente a antígenos ambientales, que modifican dichos parámetros. En el caso del carpincho, son muy pocos los trabajos realizados con individuos silvestres a nivel sudamericano y aún más en Argentina. Por eso es importante destacar que este estudio nos permitió por un lado conocer más sobre los parámetros inmuno-fisiológicos y morfológicos de carpinchos silvestres y por el otro, reportar por primera vez varios de ellos para esta especie como son por ejemplo los valores de AcN y las fracciones proteicas.

Es la primera vez que se reportan los valores de las células sanguíneas teniendo en cuenta el sexo de los individuos y su condición de preñez para una población silvestre de carpinchos en Argentina. A su vez, se destaca el recuento de las células de Kurloff realizado en sangre periférica y la diferencia hallada entre machos y hembras y entre hembras preñadas y no preñadas.

Es necesario realizar más estudios sobre los parámetros fisiológicos del carpincho para poder comprender mejor las tendencias y asociaciones que se encontraron en este estudio y arrojar luz sobre la causalidad de estas asociaciones y sobre las dinámicas de salud de este gran roedor.

BIBLIOGRAFÍA

Aleuy, O.A., Manríquez, M., Jiménez, R., Arnés, V., & Noro, M. (2013) Hematologic values and blood biochemistry of anesthetized pudu (*Pudu pudu*) in a semi-captive population. *Comparative Clinical Pathology* **22**, 529-533.

Arouca, M., de Miranda, L., Sousa Lopes, R., Takahira, R., Kohayagawa, A., Ciarlini, P., & Oba, E. (2000) Valores hematológicos de capivaras (*Hydrochoerus Hydrochaeris*) criadas em cativeiro no município de Botucatu, SP. *Ciência Rural* **30**.

Avrameas, S. (1991) Natural autoantibodies: from "horror autotoxicus" to "gnosthi seauton". *Immunology Today* **12**, 154-159.

Bailey, J.A. (1968) A weight-length relationship for evaluating physical condition of cottontails. *The Journal of Wildlife Management* 835-841.

Baral, T.N., De Baetselier, P., Brombacher, F., & Magez, S. (2007) Control of *Trypanosoma evansi* infection is IgM mediated and does not require a type I inflammatory response. *Journal of Infectious Diseases* **195**, 1513-1520.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2009) The vicious circle and infection intensity: The case of *Trypanosoma microti* in field vole populations. *Epidemics* **1**, 162-167.

Beldomenico, P.M. & Begon, M. (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol. Evol.* **25**, 21-27.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2008) The dynamics of health in wild field vole populations: a haematological perspective. *Journal of Animal Ecology* **77**, 984-997.

Boid, R., Mahmoud, M.M., & Gray, A.R. (1980) Changes in the levels of some serum enzymes in dromedary camels infected with *Trypanosoma evansi*. *Research in veterinary science* **28**, 336-340.

Boulos, M.N., Roudsari, A.V., & Carson, E.R. (2001) Health geomatics: an enabling suite of technologies in health and healthcare. *J. Biomed. Inform.* **34**, 195-219.

Burkart, R. Eco-regiones de la Argentina. 1999. Administración de Parques Nacionales (APN).

Burthe, S., Telfer, S., Lambin, X., Bennett, M., Carslake, D., Smith, A., & Begon, M. (2006) Cowpox virus infection in natural field vole *Microtus agrestis* populations: delayed density dependence and individual risk. *Journal of Animal Ecology* **75**, 1416-1425.

Corredor-Matus, J.R. & Rodríguez-Pulido, J.A. (2010) Estudio del perfil hemático y metabólico de chigüiros (*hydrochaeris hydrochaeris*)(linnaeus, 1766) en confinamiento. *Orinoquia* **14**, 95-109.

Corriale, M.J., Orozco, M.M., & Pérez Jiménez, I. (2013) Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. *Mastozoología Neotropical*.

Costa, M. M. Proteinograma sérico de gatos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. 2010. Santa Maria, RS, Brasil.

Cotter, P. F., Ayoub, J., and Parmentier, H. K. Directional selection for specific sheep cell antibody responses affects natural rabbit agglutinins of chickens. *Poultry Science* 84(2), 220-225. 2005. Poultry Science Association.

Cutrer, A.P., Zenuto, R.R., Luna, F., & Antenucci, C.D. (2010) Mounting a specific immune response increases energy expenditure of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tuco-tuco): implications for intraspecific and interspecific variation in immunological traits. *The Journal of experimental biology* 213, 715-724.

Debout, C., Quillec, M., & Izard, J. (1984) Natural killer activity of Kurloff cells: a direct demonstration on purified Kurloff cell suspensions. *Cellular immunology* 87, 674-677.

Debout, C., Taouji, S., & Izard, J. (1995) Increase of a guinea pig natural killer cell (Kurloff cell) during leukemogenesis. *Cancer letters* 97, 117-122.

Debout, C., Quillec, M., & Izard, J. (1999) New data on the cytolytic effects of natural killer cells (Kurloff cells) on a leukemic cell line (guinea pig L2C). *Leukemia research* 23, 137-147.

Deerenberg, C., Arpanius, V., Daan, S., & Bos, N. (1997) Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 264, 1021-1029.

Eberhardt, A.T., Monje, L.D., Zurvera, D.A., & Beldomenico, P.M. (2014) Detection of *Trypanosoma evansi* infection in wild capybaras from Argentina using smear microscopy and real-time PCR assays. *Veterinary parasitology*.

Eremin, O., Wilson, A.B., Coombs, R.R.A., Ashby, J., & Plumb, D. (1980) Antibody-dependent cellular cytotoxicity in the guinea pig: the role of the Kurloff cell. *Cellular immunology* 55, 312-327.

Eremin, O., Coombs, R.R., Ashby, J., & Plumb, D. (1980) Natural cytotoxicity in the guinea-pig: the natural killer (NK) cell activity of the Kurloff cell. *Immunology* 41, 367.

Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C., & Schalm, S. (2000) Veterinary hematology. *Veterinary hematology*.

Garavito, M. Caracterización hematológica del chiguiro (*Hydrochoerus Hydrochaeris*). Tesis de Grado, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNILLANOS. 2000.

Gilot-Fromont, E., Jégo, M.I., Bonenfant, C., Gibert, P., Rannou, B., Klein, F., & Gaillard, J.M. (2012) Immune phenotype and body condition in roe deer: individuals with high body condition have different, not stronger immunity. *PLoS one* 7, e45576.

Hangalapura, B.N., Nieuwland, M.G., Reilingh, G.D.V., Buyse, J., Van Den Brand, H., Kemp, B., & Parmentier, H.K. (2005) Severe feed restriction enhances innate immunity but suppresses cellular immunity in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Poultry Science* 84, 1520-1529.

Head, J.R. (1995) Uterine natural killer cells during pregnancy in rodents. *Natural immunity* 15, 7-21.

Hosseinijad, M., Shirani, D., Nabian, S., Nassiri, S.M., & Mazaheri, R. (2007) *Trypanosoma evansi* in three dogs in Iran. *Comparative Clinical Pathology* 16, 69-71.

Iwatani,Y., Amino,N., Kabutomori,O., Kaneda,T., Tanizawa,O., & Miyai,K. (1989) Peripheral large granular lymphocytes in normal pregnant and postpartum women: decrease in late pregnancy and dynamic change in the puerperium. *Journal of reproductive immunology* **16**, 165-172.

Jain,N.C. (1993) *Essentials of veterinary hematology*.

Jara,L.F., S+ínchez,J.M., Alvarado,H., & Nassar-Montoya,F. (2005) Kurloff cells in peripheral blood and organs of wild capybaras. *Journal of wildlife diseases* **41**, 431-434.

Kaneko,J.J., Harvey,J.W., & Bruss,M.L. (2008) *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press.

Ledingham,J.C.G. (1940) Sex hormones and the Kurloff cell. *The Journal of Pathology and Bacteriology* **50**, 201-219.

Lochmiller,R.L. (1996) Immunocompetence and animal population regulation. *Oikos* **76**, 594-602.

Madella,D.A., Neto,E.J.R., Felisberto,M.E., & Souza,C.E.d. (2006) Valores hematológicos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) Rodentia: Hydrochoeridae) de vida livre na região de Campinas-SP. *Ciência Rural* **36**, 1321-1324.

Madella,D.A., Rodrigues Neto,E.J., Felisberto,M.E., & Souza,C.E.d. (2006) Capybara's (*Hydrochoerus hydrochaeris*) hematological values free ranging life from Campinas regions, S+úo Paulo state, Brazil. *Ciência Rural* **36**, 1321-1324.

Matson,K.D., Ricklefs,R.E., & Klasing,K.C. (2005) A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Developmental & Comparative Immunology* **29**, 275-286.

Mendes,L., Piersma,T., Hasselquist,D., Matson,K.D., & Ricklefs,R.E. (2006) Variation in the innate and acquired arms of the immune system among five shorebird species. *Journal of Experimental Biology* **209**, 284-291.

Mihok,S., Descoteaux,J.P., Lawton,T., Lobreau,A., & Schwartz,B. (1987) The azurocyte: a new kind of leukocyte from wild voles (*Microtus*). *Canadian journal of zoology* **65**, 54-62.

Moffett-King,A. (2002) Natural killer cells and pregnancy. *Nature Reviews Immunology* **2**, 656-663.

Moller,A.P., Christe,P., Erritzoe,J., & Mavarez,J. (1998) Condition, disease and immune defence. *Oikos* **83**, 301-306.

Monzón,C.M. & Villavicencio,V.I. (1990) Serum proteins in guinea-pigs and horses infected with *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885). *Veterinary parasitology* **36**, 295-301.

Moreira,J.R., Wiederhecker,H., Ferraz,K.M.P., Aldana-Dom+inguez,J., Verdade,L.M., & Macdonald,D.W. (2013) Capybara demographic traits. *Capybara* pp 147-167. Springer.

Muñoz,K. & Montoya,E. (2001) Valores hemáticos del ronsoco (*Hydrochaeris Hydrochaeris*) en cautiverio en la amazon+ja peruana. *Rev Inv Vet Perú* **12**.

Murphy,K. (2011) *Janeway's immunobiology*. Garland Science.

- Neiff, J.J. & Malvárez, A.I.s. (2004) Grandes humedales fluviales. *Documentos del Curso Taller Bases Ecológicas para la clasificación e inventario de humedales en Argentina (Al Malvárez y RF B, comp.)*. Buenos Aires 77-85.
- Nunn, C.L. (2002) Spleen size, disease risk and sexual selection: a comparative study in primates. *Evolutionary ecology research* **4**, 91-107.
- Ochsenbein, A.F. & Zinkernagel, R.M. (2000) Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity. *Immunology Today* **21**, 624-630.
- Ojasti J. Estudio biológico del chiguire o capibara. Equinoccio Universidad Simon Bolivar-Academia de Ciencias físicas Matemáticas y Naturales. 2011. Caracas, Venezuela.
- Ould, P. & Welch, H.E. (1980) The effect of stress on the parasitism of mallard ducklings by *Echinuria uncinata* (Nematoda: Spirurida). *Canadian journal of zoology* **58**, 228-234.
- Pouliot, N., Maghni, K., Blanchette, F., Cironi, L., Sirois, P., Stankova, J., & Rola-Pleszczynski, M. (1996) Natural killer and lectin-dependent cytotoxic activities of Kurloff cells: Target cell selectivity, conjugate formation, and Ca⁺⁺ dependency. *Inflammation* **20**, 647-671.
- Racca, A.L., Eberhardt, A.T., Moreno, P.G., Baldi, C., & Beldomenico, P.M. (2013) Differences in natural antibody titres comparing free-ranging guanacos (*Lama guanicoe*) and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *The Veterinary Journal*.
- Raghupathy, R. (1997) Th 1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunology Today* **18**, 478-482.
- Revell, P. (1977) The Kurloff cell. *International review of cytology* **51**, 275-314.
- Romdhane, S.B., Jemli, M.H., Romdane, M.N., Landolsi, R., Kaabachi, N., Feki, M., & M'Bazaa, A. (1999) Serum proteins electrophoresis of dromedary in *Trypanosoma evansi* infections. (in French). *Revue de Medecine Veterinaire* **150**, 951-956.
- Sandmeier, F.C., Tracy, C.R., Dupré, S., & Hunter, K. (2012) A trade-off between natural and acquired antibody production in a reptile: implications for long-term resistance to disease. *Biology open* **1**, 1078-1082.
- Shutler, D., Alisaukas, R.T., & McLaughlin, J.D. (1999) Mass dynamics of the spleen and other organs in geese: measures of immune relationships to helminths? *Canadian journal of zoology* **77**, 351-359.
- Stockham, S.L. & Scott, M.A. (2002) Leukocytes. *Fundamentals of veterinary clinical pathology* **1**, 49-83.
- Szekeres-Bartho, J., Barakonyi, A., Par, G., Polgar, B., Palkovics, T., & Szereday, L. (2001) Progesterone as an immunomodulatory molecule. *International immunopharmacology* **1**, 1037-1048.
- Taylor, K. & Authié, E.M.L. (2004) Pathogenesis of Animal Trypanosomiasis. *the Trypanosomiasis* 331.
- Tizard, I.R. (2004) Acquired immunity: antigen-presenting receptors. *Veterinary Immunology, Ian R. Tizard editor* **7**, 67-77.
- Uche, U.E., Jones, T.W., & Boid, R. (1993) Class-specific antibody response in rabbits experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Tropical medicine and parasitology: official organ of Deutsche*

Tropenmedizinische Gesellschaft and of Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) **44**, 27-31.

Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002) *Modern applied statistics with S*. Springer.

Wegmann, T.G., Lin, H., Guilbert, L., & Mosmann, T.R. (1993) Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH 2 phenomenon? *Immunology Today* **14**, 353-356.

Whiteman, N.K., Matson, K.D., Bollmer, J.L., & Parker, P.G. (2006) Disease ecology in the Galapagos Hawk (*Buteo galapagoensis*): host genetic diversity, parasite load and natural antibodies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **273**, 797-804.

Woszczek, G., Chen, L.Y., Nagineni, S., & Shelhamer, J.H. (2008) IL-10 inhibits cysteinyl leukotriene-induced activation of human monocytes and monocyte-derived dendritic cells. *The Journal of Immunology* **180**, 7597-7603.

PARTE 2. ASOCIACIONES ENTRE CARGA PARASITARIA, CONDICIÓN Y ESTADO INMUNITARIO DE CARPINCHOS SILVESTRES.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que se han descrito para el carpincho más de 80 especies de parásitos, son escasos los trabajos que han reportado las abundancias e intensidades de los helmintos específicos del tracto gastrointestinal del carpincho y aún menos los trabajos que han relacionado estas variables con la condición de los carpinchos. Costa y Catto (1994) cuantificaron los helmintos intestinales en carpinchos de Brasil y Casas *et al.* (1995) lo hizo en carpinchos de Bolivia. Salas y Herrera (2004) reportaron las intensidades de los helmintos intestinales y su relación con características del hospedador: edad, sexo y condición corporal en una población de carpinchos de Venezuela y Sinkoc *et al.* (2009) describieron la prevalencia e intensidad de los endoparásitos gastrointestinales de carpinchos provenientes de campos ganaderos en Brasil y los relacionó con la edad del hospedador. Por lo tanto los objetivos de este estudio fueron:

- 🐾 Reportar la prevalencia e intensidad de las especies de helmintos gastrointestinales de carpinchos silvestres.
- 🐾 Describir las relaciones entre intensidades de los helmintos gastrointestinales y coccidios y las variables del hospedador como sexo, condición y parámetros inmuno-fisiológicos en carpinchos silvestres de Argentina.

Materiales y Métodos

Animales

Los 26 carpinchos utilizados en este estudio (10 hembras y 16 machos adultos) fueron eutanaciado en la estancia Rincón del Socorro (28° 39' S 57° 25' W), entre agosto del 2010 y agosto 2012, con el permiso de la Dirección de Recursos Naturales de la provincia de Corrientes durante un programa para limitar la superpoblación. Para mayor información ver materiales y métodos del capítulo 3.1. Se utilizaron la masa corporal y las medidas morfológicas para calcular la edad de los carpinchos (Ojasti 2011).

Cargas parasitarias

Los procedimientos para necropsia, recolección y fijación del material gastrointestinal de los carpinchos se hicieron mediante la técnica descrita para el estudio de los helmintos en rumiantes con algunas modificaciones (Ueno y Gutierrez 1988, para mayor información dirigirse a Materiales y métodos, sección obtención y determinación de los parásitos gastrointestinales adultos, parte 1 de este capítulo). Se utilizó una alícuota del 10% del contenido de intestino delgado y del ciego para calcular la intensidad de los nematodos que se encuentran en estas dos partes anatómicas debido a la cantidad de contenido presente en ellas. Los parásitos del intestino grueso, los céstodes del intestino delgado y los trematodos del ciego, fueron recolectados y contados al momento de la disección, mientras que el recuento de los parásitos del intestino delgado (excepto los céstodes) y ciego se llevó a cabo en el laboratorio bajo lupa estereoscópica BOECO NTB-3. Para estimar la intensidad de la infección por coccidios se evaluaron muestras de heces frescas de cada individuo mediante la técnica de flotación cuali-cuantitativa de Wisconsin modificada que utiliza una solución

sobresaturada de azúcar (Cox & Todd 1962) en el Laboratorio de Ecología de Enfermedades, ICIVET-UNL-CONICET (para más información ver materiales y métodos de la parte 1 de este capítulo).

Medición de la condición corporal, sistema inmune y otros parámetros fisiológicos

Para medir condición de los carpinchos se utilizó el índice de condición corporal, el cual fue estimado palpando la grasa y los músculos que cubren las vertebrae torácicas y la parrilla costal y a la altura de los huesos pélvicos, región entre la tuberosidad isquiática y la cresta ilíaca (Burthe, 2006). Cada área se califica en una escala de 1 a 5: 1- esqueleto muy obvio; 2 – esqueleto obvio; 3 – equilibrio entre esqueleto y tejidos superficiales; 4 – esqueleto no tan obvio; 5 – obesidad. Por último ambos números se suman para obtener un único valor por individuo. Además se utilizó un segundo índice de condición (cond2). Para el mismo se tuvo en cuenta la relación peso-largo total del individuo y se controló por el estado de preñez de las hembras.

Las muestras de sangre de los carpinchos silvestres fueron obtenidas inmediatamente luego de ser sacrificados. Entre 15-20 ml de sangre fueron colectados mediante punción cardíaca y colocados en tubos de polipropileno con y sin anticoagulante, EDTA 10% (SB, Argentina). Las muestras sin anticoagulante fueron centrifugadas para separar suero. Los sueros fueron almacenadas en eppendorfs rotulados a -20°C para su posterior utilización.

A partir de las muestras de sangre con anticoagulante se realizó el recuento total de glóbulos rojos y glóbulos blancos como se describe en el capítulo 2 sección Recuento de células sanguíneas. Para el recuento diferencial de los leucocitos de los carpinchos, se realizaron extendidos de sangre (frotis) y luego se procedió en campo a realizar la tinción de los mismos con la técnica May Grünwald-Giemsa (Eberhardt *et al.* 2013). El recuento se realizó sobre un total de 200 glóbulos blancos en el laboratorio de Ecología de Enfermedades del ICIVET-UNL-CONICET.

Se determinó la concentración de proteínas plasmáticas totales (PPT) y albúmina (A) (Rahbek 2007) en muestras séricas provenientes de cada uno de carpinchos silvestres. Las fracciones proteicas séricas se evaluaron y cuantificaron en un densitómetro automatizado (Genio S, Interlab SRL, Italia) de acuerdo con el procedimiento descrito por el fabricante (Para mayores detalles dirigirse a Materiales y métodos, sección *Determinación de proteínas totales y fracciones proteicas* del capítulo 2).

Otras medidas de inversión inmunitaria analizadas fueron: i) masa esplénica (masa del bazo) (Ould *et al.* 1980; Hangalapura *et al.* 2005), y ii) títulos de anticuerpos naturales (AcN) (Boulos, Roudsari y Carson 2001; Matson, Ricklefs y Klasing 2005). La determinación de los títulos de AcN fue realizada por duplicado mediante un ensayo de hemoaglutinación siguiendo el método descrito por Matson *et al.* (2005) con algunas modificaciones, (Para mayores detalles dirigirse a Materiales y métodos, sección *Masa esplénica y anticuerpos naturales* del capítulo 2).

Análisis estadísticos

Para evaluar el efecto que producen los distintos parásitos gastrointestinales sobre la condición corporal y los parámetros inmuno-fisiológicos de los carpinchos se utilizaron modelos lineales generalizados, transformando por exponenciación la variable independiente para acercarse a la

normalidad, cuando fue apropiado. Se utilizó el paquete MASS (Venables y Ripley 2002) del software estadístico R.

RESULTADOS

Se reportaron en los 26 tractos de carpinchos 7 especies de nematodos: *Strongyloides chapini*, *Echinocoleus hydrochoeri*, *Vianella hydrochoeri*, *Hydrocherisnema anomalobursata*, *Trichostrongylus cf. axei*, *Protozoophaga obesa* y *Trichuris sp.*; 3 especies de trematodos: *Taxorchis cabrali*, *Taxorchis schistocotyle* e *Hippocrepis hippocrepis* y al menos 3 especies de cestodos del género *Monoecocestus*. Las prevalencias e intensidades medias se reportan en la tabla 1.

Debido a que las hembras de las especies de *V. hydrochoeri* e *H. anomalobursata* no pueden ser identificadas bajo lupa, estas dos especies se agruparon en la familia Viannaiidae para el cálculo de la intensidad y para relacionar esta medida con las características del hospedador.

Para el cálculo de la prevalencia e intensidad de infección por coccidios se utilizó el recuento total de ooquistes ya que solo *E. boliviensis* por su tamaño y color, puede distinguirse fácilmente bajo microscopio del resto de las especies (Tabla 1). Además, de los 16 carpinchos positivos para coccidios, sólo dos reportaron *E. boliviensis*.

Especies de parásitos	Prevalencia %	Intensidad media	Rango
<i>Strongyloides cf chapini</i>	76.92	85.35	1-403
<i>Vianella hydrochoeri</i>	96.15		
<i>Hydrocherisnema anomalobursata</i>	80.77		
Familia Viannaiidae (<i>V. hydrochoeri</i> y <i>H. anomalobursata</i>)	100	460.85	16-2132
<i>Trichostrongylus cf axei</i>	38.46	13.3	1-30
<i>Echinocoleus hydrochoeri</i>	88.46%	30.6	1-233
<i>Protozoophaga obesa</i>	100	575.53	214-1373
<i>Trichuris sp.</i>	3.84	2 *	
<i>Taxorchis cabrali</i>	69.23	6.44	1-16
<i>Taxorchis schistocotyle</i>	7.7	1.5	1-2
<i>Hippocrepis hippocrepis</i>	76.92	30.5	4-256
<i>Monoecocestus spp.</i>	92.31	4	1-17
<i>Eimeira spp.</i>	61.53	6.25	1-25

* intensidad absoluta

Tabla 1. Prevalencia, intensidad media y rango de los helmintos y coccidios del tracto gastrointestinal de los carpinchos silvestres de Corrientes, Argentina (N=26). Las especies *V. hydrochoeri* y *H. anomalobursata* fueron consideradas juntas para el cálculo de la intensidad media debido a que las hembras de estas especies son semejantes y no pueden ser identificadas bajo lupa.

Los nematodos *P. obesa* y la familia Viannaiidae estuvieron presentes en todos los carpinchos examinados y fueron además los parásitos con mayor intensidad media (Tabla 1). De los 26 carpinchos analizados, sólo 1 tuvo 3 especies de helmintos, los demás tuvieron 4 (dos carpinchos), 5 (4 carpinchos), 6 (8 carpinchos), 7 (4 carpinchos), 8 (2 carpinchos) y hasta 10 (1 carpincho) especies de helmintos co-infectantes.

La intensidad de los helmintos fue independiente del sexo de los carpinchos, no hubo diferencias entre machos y hembras.

En cuanto a la relación entre la intensidad de los distintos parásitos y las características inmunofisiológicas de los carpinchos se encontraron asociaciones positivas y negativas dependiendo del

parámetro y del parásito. En la tabla 2 se presentan los modelos cuyos términos fueron significativos (la variable sexo no fue retenida en los modelos).

Modelo = condición ~ <i>Monoecocestus</i> spp. + <i>P. obesa</i> + <i>T. cabrali</i>				
Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor	
Intercepto	5.130	0.4380	<0.001	
<i>Monoecocestus</i> spp	-0.1171	0.0394	0.0117	
<i>P. obesa</i>	0.00143	0.0006	0.0330	
<i>T. cabrali</i>	0.22158	0.0598	0.003	
Modelo = cond2 ~ Viannaiidae				
Intercepto	3.6868	1.00790	0.001	
Viannaiidae	-0.0080	0.00143	<0.001	
Modelo = Glóbulos rojos ~ <i>T. cf axei</i> + Largo total				
Intercepto	21886501	5630184	<0.001	
<i>T. cf axei</i>	-107223	39674	0.0130	
Largo total	-133961	0.30673	0.008	
Modelo = Linfocitos ~ <i>T. cf axei</i> + <i>H. hippocrepis</i>				
Intercepto	5443.45	547.12	<0.001	
<i>T. cf axei</i>	-148.02	57.10	0.017	
<i>H. hippocrepis</i>	22.32	10.03	0.037	
Modelo = eosinófilos ^{0.5} ~ <i>S. chapini</i> + <i>Monoecocestus</i> spp.				
Intercepto	19.2984	1.7125	<0.001	
<i>S. chapini</i>	-0.0262	0.0111	0.0281	
<i>Monoecocestus</i> spp.	-0.6668	0.2428	0.0118	
Modelo = Anticuerpos Naturales ~ <i>Eimeira</i> spp.				
Intercepto	8.2769	0.4524	<0.001	
<i>Eimeira</i> spp.	0.1320	0.0627	0.046	
Modelo = Gammaglobulinas ~ <i>S. chapini</i> .				
Intercepto	1.48018	0.1389	<0.001	
<i>S. chapini</i>	0.00530	0.00109	<0.001	
Modelo = masa del bazo ~ Largo total + <i>S. chapini</i> . + Viannaiidae + <i>Monoecocestus</i> spp.				
Intercepto	-36.4909	58.6052	0.540	
Largo total	1.3259	0.48368	0.012	
<i>S. chapini</i>	0.1201	0.03689	0.004	
Viannaiidae	-0.0282	0.00736	<0.001	
<i>Monoecocestus</i> spp.	-1.7407	0.75036	0.030	

Tabla 2. Modelos lineales que describen el efecto de los parásitos gastrointestinales (helminths y coccidios) sobre la condición y los parámetros inmuno-fisiológicos de los carpinchos silvestres.

DISCUSIÓN

De los 11 taxones de helmintos encontrados en el sistema gastrointestinal del carpincho *P. obesa* y la familia Viannaiidae fueron las de mayor prevalencia e intensidad, lo cual coincide con otros autores (Salas y Herreras 2004; Sinkoc *et al.* 2009) y sólo para el caso de *P. obesa* (Casas *et al.* 1995). En este trabajo solo se contó el número de *P. obesa* en una alícuota del 10% del total del contenido del ciego y se registró una intensidad media igual a 575 individuos. Sinkoc *et al.* (2009) ha reportado intensidades mayores a los 5000 ejemplares de este parásito y Salas y Herrera (2004) cerca de 3000 ejemplares. Las altas prevalencias e intensidades de este parásito han llevado a considerarlo como una especie simbiote más que un parásito (Salas y Herreras 2004; Sinkoc *et al.* 2009). En este trabajo además de su prevalencia igual al 100% y sus altas densidades se ha encontrado una relación positiva entre la condición de los carpinchos y la intensidad de *P. obesa*, es decir animales con

mejores condiciones poseen mayores cargas de este nematode. Datos que podrían apoyar dicha hipótesis.

Los valores de prevalencias hallados para *S. chapini* en este estudio son mayores a lo reportado por otros autores (Costa y Catto 1994; Sinkoc *et al.* 2009). Sin embargo los valores de intensidades medias son menores a lo reportado en estos trabajos. No se han encontrado diferencias entre machos y hembras con respecto a su intensidad, al igual que para los demás helmintos.

La presencia de las especies de la familia Viannaiidae, *V. hydrochoeri* y *H. anomalobursata*, fueron encontradas en los intestinos delgados de carpinchos silvestres en Brasil, Bolivia y Venezuela (Costa y Catto 1994; Casas *et al.* 1995; Salas y Herrera 2004; Sinkoc *et al.* 2009). La mayoría de los trabajos sólo reportan a *V. hydrochoeri*. En este trabajo se han podido identificar machos pertenecientes a ambas especies, ya que las hembras son muy semejantes y no pueden ser identificadas bajo lupa. Salvo en el trabajo de Casas *et al.* 1995, que reportaron una prevalencia del 2% (que puede atribuirse a un error de muestreo) estos nematodes presentan prevalencias mayores a 50% e intensidades medias que varían de 100 a más de 1000 individuos.

Se han reportado *Trichostrongylus* sp. en carpinchos en otras zonas de su distribución (Costa y Catto; Nogueira y Cruz 2007). Sin embargo, un estudio reciente realizado en zonas rurales donde el carpincho comparte su distribución con ganado doméstico en Brasil, Sinkoc *et al.* 2009, no han encontrado este trichostrongilo en carpinchos. En los intestinos examinados se ha reportado *T. cf axei* en casi un 40% de los carpinchos, pero sus intensidades suelen ser siempre bajas comparándola con las intensidades que presentan las otras especies de Trichostrongilos. Rincón del Socorro, de donde provienen los ejemplares de carpinchos, actualmente es una reserva privada y hace ya más de 10 años que no hay ganado. Sin embargo esta rodeada por campos ganaderos los cuales pueden ser posibles fuentes de este parásito.

E. hydrochoeri reportó una prevalencia semejantes a otros trabajos (Costa y Catto 1994; Sinkoc *et al.* 2004; Sinkoc *et al.* 2009). Sin embargo su intensidad fue semejante a la reportada por Sinkoc *et al.* (2009) pero inferior a la de los otros trabajos. En este estudio tuvo una alta prevalencia, más del 80% pero su intensidad media fue baja, 30 individuos aproximadamente, comparada con la intensidad de las otras especies predominantes.

La menor prevalencia e intensidad (absoluta porque solo hubo dos ejemplares) la presentó el nematode *Trichuris* sp. Estudios son necesarios para saber que especie del género *Trichuris* es la que presentan los carpinchos. Sin embargo, por la baja intensidad y prevalencia con que se caracterizan los hallazgos de este taxón en los distintos trabajos realizados con carpinchos, se sugiere que *Trichuris* spp. ocurre en el carpincho por accidente y es originaria de alguna especie doméstica o de la nutria (*Myocastor coypus*) (Sinkoc *et al.* 2009). Esto es sostenido por estos autores ya que en la misma zona donde estudiaron los carpinchos y encontraron *Trichuris* spp. en sus ciegos, se reportó una prevalencia de esta especie igual al 87.5% en nutrias con una intensidad media de 18.18 parásitos (Paulsen, 1998).

La prevalencia observada en este trabajo de *Hippocrepis hippocrepis* (77%) fue semejante a la reportada por Salas y Herrera (2004) y Sinkoc *et al.* 2009 (62.5 %) y superior a la reportada por Casas *et al.* (1995) en Bolivia (20%), Sutton *et al.*, (1995) en Argentina (52.9%) y en Mato Grosso (Brasil)

por Costa and Catto (1994), cuya prevalencia fue igual a 34.8%. Sin embargo estos últimos autores consideraron a esta especie potencialmente patogénica debido a su alta intensidad media (3832), y encontrarse fijada en la mucosa del ciego y colon de los carpinchos. A pesar de que este trematode posee una alta prevalencia y se encontró fijado en la mucosa del intestino grueso, la intensidad media de este parásito fue baja (30,5) semejante a la reportada por Sinkoc *et al.* 2009 e inferior a lo hallado por Costa and Catto (1994) y por Salas and Herrera (2004) en Venezuela (51,25).

La presencia de digeneos en carpinchos silvestres ya ha sido reportada por otros autores. Sin embargo es la primera vez en Argentina que se reportan ambas especies juntas: *T. cabrali* y *T. shchistocotyle*. Las prevalencias e intensidades son muy semejantes a lo reportado por Sinkoc *et al.* 2009 en Brasil. *T. cabrali* presentó una mayor prevalencia e intensidad (69. 23 % y 6.44) que *T. shchistocotyle* (7.7 % y 1.5).

En este estudio las especies de Anoplocephalidae reportaron una alta prevalencia (92.7%) pero baja intensidad (4), coincidiendo con la mayoría de los resultados reportados para las distintas especies del *Monoecocestus* encontradas en los carpinchos silvestres a lo largo de su distribución (Costa y Catto 1994; Sinkoc *et al.* 2009).

Condición y parámetros inmuno-fisiológicos: relación con las cargas parasitarias

Teniendo en cuenta la gran variabilidad de los parámetros inmuno-fisiológicos en los animales silvestres y que el número de carpinchos examinado en este trabajo es relativamente bajo no se pueden inferir demasiadas conclusiones a partir de las asociaciones encontradas entre los parásitos y dichos parámetros. Sin embargo algunas de ellas son de gran importancia y coinciden con lo reportado por otros autores.

Se halló una relación negativa entre condición y *Monoecocestus* spp. y Viannaiidae coincidiendo con lo reportado por Salas y Herrera (2004). Los autores encontraron una asociación negativa entre la condición de carpinchos silvestres y *Monoecocestus macrobursatum* y *V. hydrochoeri*. Síntomas como deterioro de la condición corporal (Fogarty *et al.*, 1994), disminución del crecimiento, diarrea, pérdida progresiva del peso y anemia (Soulsby, 1965) (no por pérdida de sangre sino por la enfermedad crónica que ocasiona este parásito, también llamadas anemias de las enfermedades inflamatorias) (Rose and Hodgson, 1993), se han asociado con la presencia de especies de Anoplocephalidos en equinos (Jordan 2001). Si bien el efecto que produce un parásito en el hospedador es muy difícil de estudiar especialmente en animales silvestres que poseen una rica infracomunidad, se podría suponer que algunos de estos efectos que producen otras especies de cestodes sobre sus hospedadores podrían explicar esta relación negativa con la condición hallada en este trabajo.

El único parásito que tuvo una asociación negativa con el recuento de glóbulos rojos fue *T. cf. axei*, nematodo que el carpincho comparte con el ganado doméstico por lo que deberían hacerse más estudios para comprender y determinar cuál es el verdadero daño que puede ocasionar este parásito a los carpinchos silvestres y cuánto puede afectar a sus dinámicas poblacionales.

Con respecto a los otros parámetros inmunofisiológicos se encontraron tanto asociaciones positivas como negativas con sólo algunas especies de parásitos. Se esperaba encontrar una asociación positiva entre helmintos y eosinófilos, ya que por lo general las infecciones por helmintos suelen

asociarse con una marcada eosinofilia en sangre (Fainboim y Geffner 2012). Sin embargo la relación entre los eosinófilos y *S. chapini* y *Monoecocestus* spp fue negativa. Ambos parásitos poseen en general medianas a altas prevalencias y bajas a medianas intensidades, por lo que podría sugerir que los carpinchos desarrollan cierta tolerancia frente a su comunidad parasitaria por lo tanto no se observa una marcada eosinofilia en sangre.

El aumento de gammaglobulinas indican una respuesta inmune adaptativa ya instalada, dada por el aumento de anticuerpos (Tizard 2004). En este estudio sólo se encontró una asociación positiva entre las gammaglobulinas y el nematodo *S. chapini*. Esta relación encontrada podría indicar que el carpincho estaría generando una mayor resistencia frente a esta especie de parásito (Allen y Maizels 2011). Sin embargo, al ser tan complejo el sistema inmune y las respuestas que un hospedador genera frente a su comunidad parasitaria, son necesarios estudios para poder dilucidar estos mecanismos y asociaciones.

Por otro lado se encontró una asociación positiva entre los anticuerpos naturales y las intensidades de coccidios. Algo semejante se observó en los carpinchos de cautiverio del experimento descrito en el capítulo 4. Si bien estos carpinchos fueron sometidos a restricción de alimento por lo que se encontraban bajo una situación de estrés crónico, los individuos de los tratamientos que tuvieron mayores cargas de coccidios, reportaron niveles de anticuerpos naturales significativamente mayores a lo de los controles. Por lo que se dedujo que bajo situaciones de estrés, los carpinchos invierten más en una inmunidad innata, algo similar podría estar ocurriendo en estos carpinchos silvestres.

La medición de la masa del bazo se ha utilizado para estudiar las estrategias de inversión inmunológicas (Møller *et al.* 1998, Shutler, *et al.* 1999, Morand and Poulin 2000, Nunn 2002). Un bazo con mayor masa produce o almacena más linfocitos que un bazo con menor masa (Nunn 2002; Møller *et al.* 1998; Shutler *et al.* 1999), y los linfocitos son un componente importante del sistema inmune. Un bazo de mayor tamaño refleja una mayor inversión en tejido linfoide, lo que es causada principalmente por una estimulación antigénica (Møller *et al.* 1998) o por una mejor condición (i.e. animales en mejores condiciones podrán invertir más en inmunidad por lo tanto, tendrán mayores bazos) (Møller *et al.* 1998). Algunos estudios en roedores han encontrado una relación positiva entre carga parasitaria y masa del bazo (Watkins *et al.* 1991, Hōrak *et al.* 2006). En este trabajo se encontró una asociación positiva entre la masa del bazo y el largo total de los individuos, carpinchos de mayor tamaño tuvieron bazos con mayor masa. Y además se encontró una asociación positiva y significativa con *S. chapini* pero una relación negativa y significativa con *Monoecocestus* spp. y la familia Viannaiidae. Vicente *et al.* (2007) encontraron asociaciones negativas entre el tamaño relativo del bazo y cargas de nematodos en al menos algunos grupos de edad y sexo de ciervos colorados (*Cervus elaphus*), sobre todo en machos adultos. Los autores explican sus hallazgos estableciendo que si existe una relación causal entre el tamaño del bazo y la excreción de larvas de *Elaphostrongylus cervi*, la excreción de las larvas de este parásito, estaría determinada (al menos parcialmente) por la masa del bazo y no al revés (como se pudo haber deducido si hubiesen encontrado una relación positiva), como resultado de una mayor inversión en la inmunidad por los individuos más sanos y / o de mayor condición. Por lo tanto, plantean que la masa del bazo podría reflejar la capacidad inmune en ciervos colorados, en lugar de la reactivación del sistema inmunológico, y los individuos con bazos grandes son aparentemente más capaces de mantener los niveles de parásitos bajos. Por lo tanto, aunque las cargas de parásitos están asociadas con el

tamaño del bazo, como se ha demostrado en distintos estudios, la dirección de la relación no es aparentemente universal.

El sistema inmune de los mamíferos es muy complejo. Las respuestas inmunes dependen de la especie de parásito pero también de la condición del hospedador y del contexto en el cual se produzcan. Por lo tanto, son necesarios más estudios para poder entender y dilucidar cuales son las asociaciones entre los distintos compartimentos del sistema inmune y las intensidades de las especies que forman la comunidad de parásitos del carpincho.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, J. y Maizels, M. (2011) Diversity and dialogue in immunity to helminthes. *Nature Reviews Immunology*. **11**:375-388.

Beldomenico, P.M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2009) The vicious circle and infection intensity: The case of *Trypanosoma microti* in field vole populations. *Epidemics* **1**, 162-167.

Beldomenico, P.M. & Begon, M. (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol. Evol.* **25**, 21-27.

Blanchet, S., Méjean, L., Bourque, J.F., Lek, S., Thomas, F., Marcogliese, D.J., Dodson, J.J., & Loot, G. (2009) Why do parasitized hosts look different? Resolving the "chicken-egg" dilemma. *Oecologia* **160**, 37-47.

Casas, M.C., Duszynski, D.W., & Zalles, L.M. (1995) Three new eimerians in capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) populations from Eastern Bolivia and Southern Venezuela. *The Journal of parasitology* 247-251.

Costa, C. A. F. and Catto, J. B. (1994), Helminthos parasitos de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na sub-região da Nhecolândia, Pantanal-sul-matogrossense. *Rev. Bras. Biol.*, **51**: 1, 39-48

Cox, D. D. and Todd, A. C. Survey of gastrointestinal parasitism in Wisconsin dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 141, 706-709. 1962.

Eberhardt, A.T., Costa, S.A., Marini, M.R., Racca, A., Baldi, C.J., Robles, M.R., Moreno, P.G., & Beldomenico, P.M. (2013) Parasitism and physiological trade-offs in stressed capybaras. *PLoS one* **8**, e70382.

Fogarty, U, del Piero, F., Purnell, R.E., Morurski, K.R., 1994. Incidence of *Anoplocephala perfoliata* in horses examined at an Irish abattoir. *Veterinary Record*. **14**, 515-518.

Hangalapura, B.N., Nieuwland, M.G., Vries Reilingh, G., Buyse, J., Van Den Brand, H., Kemp, B., & Parmentier, H.K. (2005) Severe feed restriction enhances innate immunity but suppresses cellular immunity in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Poultry Science* **84**, 1520-1529.

Hudson, P.J., Dobson, A.P., & Newborn, D. (1998) Prevention of population cycles by parasite removal. *Science* **282**, 2256-2258.

Irvine, R.J. (2006) Parasites and the dynamics of wild mammal populations. *Animal Science* **82**, 775.

- Jordan ME (2001) Population dynamics of oribatid mites (Acari: Oribatida) on horse pastures of North Central Florida. Dissertation, University of Florida.
- Matson,K., Ricklefs,R., & Klasing,K. (2005) A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Dev.Comp.Immunol.* 29, 275-286.
- Miller,C.M., Smith,N.C., Ikin,R.J., Boulter,N.R., Dalton,J.P., & Donnelly,S. (2009) Immunological interactions between 2 common pathogens, Th1-inducing protozoan *Toxoplasma gondii* and the Th2-inducing helminth *Fasciola hepatica*. *PLoS one* 4 , e5692.
- Moller,A.P., Christe,P., Erritzoe,J., & Mavarez,J. (1998) Condition, disease and immune defence. *Oikos* 83, 301-306.
- Nogueira,M.F. & Fukuta da Cruz,T. (2007) Doenças da Capivara. Embrapa Pantanal, Corumbá, MS.
- Nunn,C.L. (2002) Spleen size, disease risk and sexual selection: a comparative study in primates. *Evolutionary ecology research* 4, 91-107.
- Ojasti J. Estudio biológico del chiguire o capibara. Equinoccio Universidad Simon Bolivar-Academia de Ciencias físicas Matemáticas y Naturales. 2011. Caracas, Venezuela.
- Ortiz,M.a.I. & Rizzello,A.D. (2004) Prevalencia de parásitos intestinales en poblaciones de *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) de la laguna Ibera, provincia de Corrientes. Estado de Avance Universidad del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. *Estado de Avance Universidad del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas, Resumen* 36.
- Ould,P. & Welch,H.E. (1980) The effect of stress on the parasitism of mallard ducklings by *Echinuria uncinata* (Nematoda: Spirurida). *Canadian Journal of Zoology* 58, 228-234.
- Roberts,M.G. & Grenfell,B.T. (1992) The population dynamics of nematode infections of ruminants: The effect of seasonality in the free-living stages. *Mathematical Medicine and Biology* 9, 29-41.
- Rose,M.E. (1975) Infections with *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina* in the fowl: effect of previous infection with the heterologous organism on oocyst production. *Parasitology* 70, 263-271.
- Salas,V. & Herrera,E.A. (2004) Intestinal helminths of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, from Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 99, 563-566.
- Sinkoc,A.L., Brum,F.A., Muller,G., & Brum,J.G.W. (2004) Helminths parasites of capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* L. 1766) na região de Aracatuba, São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo* 71, 329-333.
- Sinkoc,A.L., Brum,J.G.W., & Muller,G. (2009) Gastrointestinal helminths of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) in Cattle Breeding Farm in the area of the Ecological Reserve of Taim, Rio Grande. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52, 327-333.
- Shutler,D., Alisauskas,R.T., & McLaughlin,J.D. (1999) Mass dynamics of the spleen and other organs in geese: measures of immune relationships to helminths? *Canadian journal of zoology* 77, 351-359.
- Soulsby, E.J.L., 1965. Textbook of Veterinary Clinical Parasitology. F.A. Davis, Philadelphia, 1120 pp.
- Stromberg,B.E. (1997) Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology* 72, 247-264.

Tizard,I.R. (2004) Acquired immunity: antigen-presenting receptors. *Veterinary Immunology, Ian R.Tizard editor* **7**, 67-77.

Tompkins,D.M. & Begon,M. (1999) Parasites can regulate wildlife populations. *Parasitology Today* **15**, 311-313.

Ueno,H. & Gutierrez,V. (1988) Manual para diagnóstico de parásitos en rumiantes. *Int.Coop.Ag.* 63-176 pp.

Capítulo 4

Parasitismo y sistema inmune de los capinchos: respuestas al estrés



INTRODUCCIÓN

Existe una gran evidencia empírica que apoya la idea de que los parásitos juegan un papel clave en la dinámica de las poblaciones de vida silvestre (Grenfell *et al.* 1995; Hudson, Dobson, & Newborn 1998; Pedersen & Greives 2008). Los parásitos son perjudiciales para la salud de sus hospedadores y pueden causar una disminución en la probabilidad de supervivencia y / o reproducción por ejercer un efecto patogénico específico, extraer recursos del hospedador y / o por inducir una respuesta inmune nutricionalmente demandante (Gulland 1995; Lochmiller & Deerenberg 2000; Frank & Schmid-Hempel 2008). Debido a esto, los parásitos tienen un potencial considerable para regular el crecimiento de las poblaciones de los hospedadores en la naturaleza (Tompkins & Begon 1999), que ha sido demostrado experimentalmente para algunos sistemas hospedador-parásito (Hudson *et al.* 1998). Sin embargo, el impacto de un parásito en su hospedador parece ser dependiente del contexto (Brown, Schmid-Hempel y Schmid-Hempel 2003).

Aunque los factores que determinan el contexto en que se aumenta la virulencia del parásito aún no se han dilucidado, se han propuesto algunas hipótesis. Lochmiller y Deerenberg (1993) postulan que la limitación de nutrientes es uno de los factores de estrés ambientales más importantes que influyen en la inmunocompetencia y, posteriormente, la regulación de la población.

Algunos parásitos endémicos pueden ser raramente patógenos, pero podrían llegar a ser importantes reguladores de la población cuando los hospedadores están estresados (Ould & Welch, 1980; Scott, 1988; Brown *et al.* 2003). Algunos estudios muestran que ciertos componentes del sistema inmune se han mejorado por el estrés (Martin 2009). Sin embargo, está ampliamente aceptado que el estrés prolongado (crónico) disminuye la función inmune a través de mecanismos que implican el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) y los glucocorticoides, dejando a los individuos más susceptibles a la infección (Sapolsky *et al.* 2000; Webster *et al.* 2002). Se ha sugerido que esta vulnerabilidad estrés-dependiente del hospedador es el mecanismo por el cual los parásitos ejercen un control sobre las poblaciones de sus hospederos, y los hospedadores tienden a estar estresados y con una condición deteriorada (convirtiéndose así más vulnerables a sus parásitos) cuando sus densidades son altas (Beldomenico y Begon 2010).

En un estudio reciente, Pedersen y Greives (2010) demostraron que la interacción entre la disponibilidad de alimentos, el estrés y los parásitos podría conducir oscilaciones en las poblaciones de un ratón silvestre. Además, el estudio reveló una sinergia entre la disponibilidad de nutrientes y la infección parasitaria. Beldomenico y Bégon (2010) sugiere que tal sinergia puede ser causada por los efectos recíprocos entre los parásitos y la condición fisiológica del hospedador. Los individuos con una condición empobrecida son más susceptibles a las infecciones, lo que debilita aún más su condición y los predispone a las infecciones más severas, y así sucesivamente, creando un círculo vicioso en el cual la intensidad de la infección es a la vez causa y consecuencia de la condición inmune del hospedero. Sin embargo, se necesitan datos empíricos procedentes de múltiples sistemas de parásito-hospedador para mejorar nuestra comprensión de los mecanismos por los cuales los parásitos regulan las poblaciones de sus hospederos.

El carpincho, *Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus (Rodentia: Caviidae), el roedor más grande del mundo, es una de las especies de fauna silvestre más utilizadas en América del Sur (Quintana *et al.* 1992; Bolkovic *et al.* 2006). Los carpinchos son hospedadores de una rica comunidad de parásitos,

entre ellos varios helmintos y protozoos específicos que muestran altas prevalencias y ubicuidad (Freyre *et al.* 1979; Salas y Herrera 2004, Vieira, Lima y Bessa 2006; Albuquerque *et al.* 2008; Sinkoc, Brum y Muller 2009). Los nematodos reportados con mayor frecuencia en carpinchos son *Strongyloides chapini* Sandground (Rhabditoidea, Strongyloidea), *Hydrochoerisnema anomalobursata* Arantes y Artigas (Trichostrongyloidea, Viannaiidae), *Viannella hydrochoeri* Travassos (Trichostrongyloidea, Viannaiidae), *Trychostrongylus axei* Cobbold (Trichostrongyloidea, Trychostrongylidae), *Protozoophaga obesa* Diesing (Oxyuroidea, Oxyuridae), *Trichuris* sp. Roederer (Trichinelloidea, Trichuridae) y *Echinocholeus hydrochaeri* Travassos (Trichinelloidea, Trichinellidae). Dentro de los protozoos, los coccidios más comunes son *Eimeira hydrochoeri* Carini, *E. trinidadensis* Casas, Duszynski and Zalles, *E. ichiloensis* Casas, Duszynski y Zalles, *E. boliviensis* Casas, Duszynski y Zalles and *E. araside* Gurgel, Sartori y Araújo (Albuquerque *et al.* 2008).

Los estudios sobre dinámicas de poblaciones de carpinchos mostraron efectos dependientes de la densidad sobre la ganancia de masa corporal, la fecundidad, la supervivencia de las crías y la mortalidad de los adultos (Ojasti & Sosa Burgos 1985), pero la participación de los parásitos en estos efectos no se han investigado. A pesar del gran número de parásitos gastrointestinales encontrados en los carpinchos, ninguna asociación patológica se ha descrito. Sin embargo, se ha reportado asociaciones negativas entre la condición corporal y la intensidad del helminto *V. hydrochoeri* y el cestode *Monoecocestus macrobursatum* (Salas & Herrera 2004). Corriale *et al.* 2013 estiman que la baja condición de los carpinchos silvestres estudiados posdría estar relacionada a la alta carga parasitaria y a la densidad de carpinchos presentes en la zona de estudio

Estudios previos han examinado por separado el impacto de la restricción nutricional y otras formas de estrés en el crecimiento (Snyder & Wostmann 1987) la inmunidad (Hangalapura *et al.* 2005), y los parásitos (Ould & Welch 1980). Aquí evaluamos estos resultados en conjunto para establecer el efecto neto de los dos tipos de estrés en las interacciones hospedador-parásito, para presentar pruebas que podría arrojar algo de luz sobre las interacciones subyacentes y las compensaciones. En este experimento se evaluó el impacto de la restricción de alimentos y el estrés inducido por la captura y sujeción (esfuerzo físico) sobre la intensidad de nematodos gastrointestinales específicos y coccidios, y además se midió cómo estos factores de estrés afectan el crecimiento, la condición corporal, la inversión inmunológica y otros parámetros fisiológicos de los carpinchos. Nuestra hipótesis fue que ambas formas de estrés crónico iban a alterar la interacción hospedador-parásito, deteriorando la condición y reduciendo la inversión inmunológica lo que conduce a altas cargas parasitarias y viceversa en un proceso circular, al igual que en la hipótesis del círculo vicioso que se ha mencionado anteriormente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales y recintos

El experimento se llevó a cabo en seis recintos especialmente diseñados para tal fin y construidos en la estación zoológica experimental "Granja la Esmeralda" en Santa Fe, Argentina. Todos los recintos fueron idénticos, midieron 7 x 3,5 metros, con suelo de tierra, cada uno contó con un refugio de 1,75 x 1,50 metros, un tanque de agua y la mitad de su superficie aérea estaba cubierta por una cortina de "mediasombra" para proteger los carpinchos de la luz solar directa (Figura 1). Los seis recintos fueron

construidos contiguos formando un gran rectángulo y para evitar el contacto visual entre los carpinchos de los recintos contiguos, se colocó un cubrecerco de rafia blanca (Figura 2).

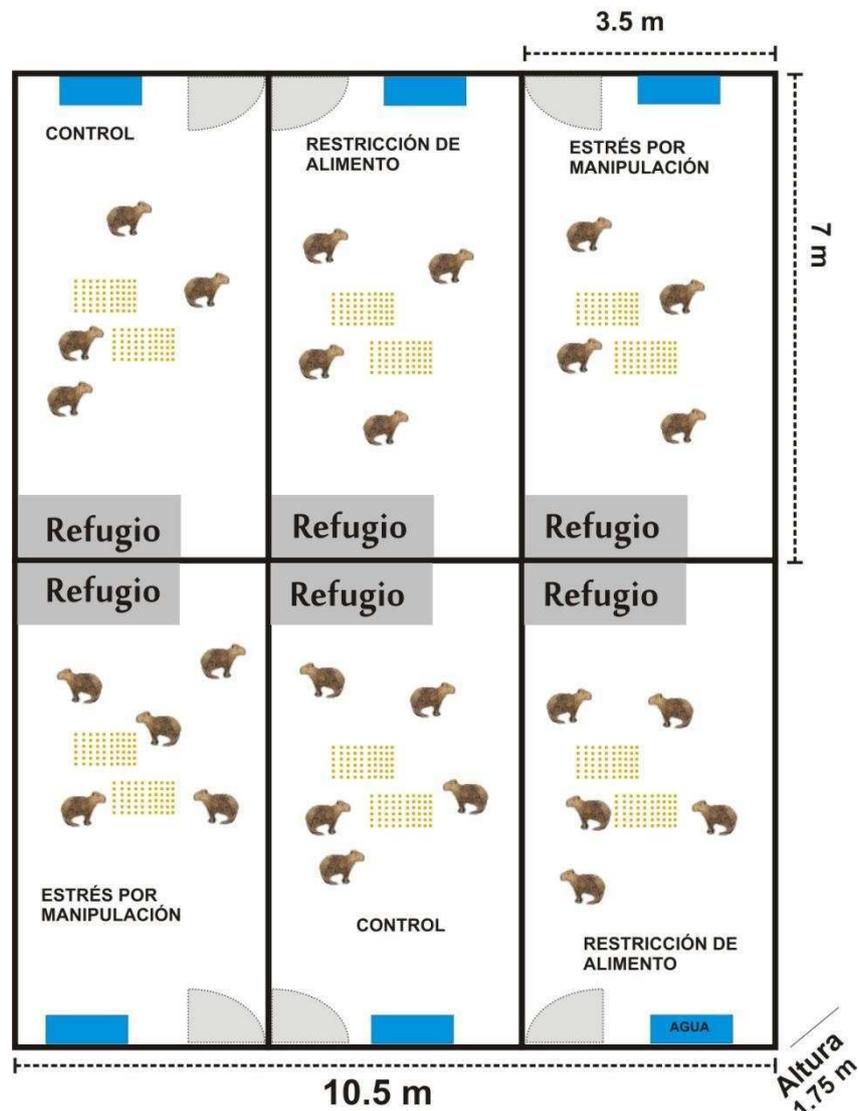


Figura 1. Diagrama de los recintos construidos para el experimento

Los carpinchos que se utilizaron en el experimento se obtuvieron del criadero "Ayuí" (propiedad de los herederos de Julio Cesar Storti), Santo Tomé, Corrientes, donde se crían y se mantienen en semicautiverio hasta su venta por su carne y piel. El parasitismo en estos animales ocurre de forma natural y no está controlado por fármacos antiparasitarios. Para reducir la variabilidad inducida por el sexo y la edad sobre las variables estudiadas, los individuos utilizados en este estudio fueron hembras entre 6 y 12 meses de edad al comienzo del experimento. Se seleccionó esta edad para asegurarse de que no haya una demanda energética reproductiva que es variable entre los individuos, pero sí de crecimiento, que suele ser más homogénea. Además se asume también, que debido a que la especie tiene crías precociales, para los seis meses de edad ya han madurado su sistema inmune. En primer lugar, el estudio se inició con 30 hembras (5 animales por recinto), pero pronto tres tuvieron que ser excluido debido a diferentes causas. Uno de ellos fue mal sexado, otro murió inmediatamente después de la translocación y otro escapó y no se pudo encontrar por varios días.



Figura 2. Recintos donde se llevó a cabo el experimento. Las paredes de los recintos estaban cubiertas con tela de tipo rafin para evitar el contacto visual entre los grupos de carpinchos. La comida era depositada en montículos en el suelo, uno por animal. Para facilitar la identificación, los animales dentro de cada recinto fueron decolorados en una parte del pelaje del cuerpo con agua oxigenada de 40 volúmenes y polvo decolorante. Así las marcas dentro de cada recinto podían ser: paletas, muslos, cruz, anca, y ausencia de decoloración.

Los restantes 27 carpinchos fueron asignados a los seis recintos a través de un muestreo aleatorio estratificado para asegurar una distribución uniforme de la masa corporal inicial, lo cual determinó también que las edades se distribuyeran homogéneamente, ya que, en los carpinchos la masa corporal se correlaciona fuertemente con la edad durante los primeros dos años de edad (Ojasti 2011). La mitad de los recintos recibió cinco animales y la otra mitad, cuatro. El agua estuvo disponible *ad libitum* durante todo el experimento. Los veterinarios del lugar inspeccionaron a los carpinchos diariamente para asegurarse de que no presenten signos clínicos de enfermedad evidentes. El único tratamiento médico que se administró durante el experimento fue el uso de insecticida en aerosol en una herida para prevenir la infestación por larvas de moscas (en un individuo, una sola aplicación).

Aclimatación y comparaciones de base

Antes de iniciar los tratamientos y para que los animales puedan aclimatarse a su nuevo entorno, se estableció un período de adaptación de cuatro semanas. Durante este período los carpinchos fueron alimentados *ad libitum* y no fueron objeto de captura ni restricción física. El alimento se administró dos veces al día y la dieta consistió en heno (sorgo o maíz) y una mezcla de salvado de arroz y harina de arroz (por la mañana) y alfalfa fresca (por la tarde). La comida fue proporcionada en el suelo, para no interferir con el ciclo de los parásitos y un montículo por individuo para evitar diferencias en el acceso a los alimentos debido a la posible jerarquía social dentro de cada recinto. Durante estas semanas, el

consumo diario total por carpincho se determinó en 800 gr. de mezcla de salvado de arroz + harina de arroz, 300 gr. de heno de sorgo o maíz y 500 gr. de alfalfa fresca. Además, se utilizó este período de 4 semanas de aclimatación para llevar a cabo comparaciones iniciales de base para asegurarse que los grupos de tratamiento no fueran diferentes en el inicio del experimento en términos de masa corporal, tamaño, índice de masa corporal (masa corporal /largo total) y conteos de huevos de parásitos y ooquistes de coccidios fecales. Estas comparaciones se realizaron mediante pruebas de Kruskal-Wallis. Sólo para estas comparaciones de referencia, α se fijó en 0,1 para reducir la probabilidad de un error tipo II. Si una prueba estadística daba significativo indicaba que era necesaria una reasignación de los carpinchos en los recintos a través de un nuevo muestreo aleatorio estratificado.

Cada carpincho fue marcado mediante un tatuaje numérico en la oreja derecha y para facilitar la identificación a simple vista, se les decoloró el pelaje de una parte del cuerpo con agua oxigenada de 40 volúmenes y polvo decolorante. Así las marcas dentro de cada recinto podían ser: paletas, muslos, cruz, anca, y ausencia de decoloración (Figura 2).

Tratamientos

Se establecieron tres tratamientos: los animales en dos de los recintos fueron alimentados con una dieta restringida (en adelante, el grupo restringido de alimentos), los carpinchos de otros dos recintos diferentes fueron capturados y fueron sometidos a restricción física por 10 minutos tres veces por semana (grupo estresado físicamente), y los individuos en los dos recintos restantes sirvieron como grupos control (Figura 1). Los tratamientos fueron distribuidos espacialmente de tal forma que se aseguró de que los grupos controles y los grupos de restricción de alimentos tuvieran adyacentes a un grupo estresado físicamente (Figura 1).

Los tratamientos se llevaron a cabo durante doce semanas consecutivas, y comenzaron inmediatamente después de completar las cuatro semanas de aclimatación. Cada tratamiento se aplicó a 9 carpinchos (distribuidos en dos recintos). Al grupo restringido de alimentos se le proporcionó una dieta reducida al 50% de salvado de arroz + harina de arroz (400gr. por carpincho) y al 40% menos de heno y alfalfa fresca (150gr. y 300gr., respectivamente) que la que consumieron los carpinchos cuando se alimentaron *ad libitum* durante el período de aclimatación.

La restricción dietaria, evitando al mismo tiempo la desnutrición, se puede lograr mediante una reducción del 20 al 60% de la ingesta media de alimentos sin restricciones, incluyendo disminución equilibrada en calorías, proteínas, vitaminas y minerales (Yu, 1996; Weindruch y Walford 1998; Weindruch *et al.* 1998). Tres veces a la semana (lunes, miércoles y viernes), los animales del grupo estresado físicamente fueron perseguidos, capturados con una red y luego físicamente restringidos mediante la sujeción de sus miembros durante 10 minutos. Fueron alimentados con 800gr. de mezcla de salvado de arroz + harina de arroz, 300gr. de heno de sorgo o maíz y 500gr. de la alfalfa fresca. Los dos grupos controles fueron alimentados con la misma dieta que los grupos estresados físicamente pero no se les realizó la captura y sujeción.

Después de doce semanas de tratamiento, todos los animales fueron anestesiados con 10 mg.kg⁻¹ ketamina y 0,5 mg.kg⁻¹ xilazina (Madella *et al.* 2006) y eutanasiados por desangrado inmediatamente después de recoger una muestra de sangre de la vena cava y realizar el registro de la masa corporal

y las medidas morfométricas. Luego, se les practicó la necropsia para obtener muestras de diferentes órganos.

Evaluación del estrés

Con el fin de evaluar si los tratamientos indujeron un estrés medible en los carpinchos, se comparó la proporción de la corteza suprarrenal que corresponde a la porción fascicular, que es la parte de la glándula que sintetiza glucocorticoides en respuesta al estrés (Jubb, Kennedy, y Palmer 2007). Las glándulas suprarrenales fijadas en 10% formalina tamponada se deshidrataron en una serie graduada de etanol: 70°, 96° y 100°, se aclaró en xileno y se incluyeron en parafina. Las secciones en serie se cortaron a 5 micras, luego se montaron en portaobjetos de vidrio y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Secciones teñidas se examinaron bajo un microscopio de luz y fueron medidos a 1000 X utilizando un ocular milimetrado.

El comportamiento de los animales a lo largo del experimento indicó que la habituación de los individuos sobre todo de los grupos estresados físicamente no se estaba produciendo. Durante toda la duración del experimento, los individuos del grupo estresado físicamente actuaron con comportamiento evasivo visible tan pronto como una persona se acercaba al recinto, mientras que esto no se observó en los carpinchos de los otros dos tratamientos.

Medidas de crecimiento y condición corporal

Antes y después del experimento, se pesaron todos los individuos (masa corporal inicial, MCI; masa corporal final, MCF) utilizando una balanza mecánica (precisión 0,2 kg.). La medida morfométrica utilizada en este estudio fue longitud total (LT). Las medidas de crecimiento y condición corporal utilizadas fueron, aumento de la masa corporal (MCF - MCI), índice de masa corporal (MCF/ TL) (Ojasti 2011) y la condición corporal. Esta última se estimó mediante la palpación de la grasa y la cobertura muscular sobre vértebras torácicas y los huesos pélvicos (Burthe *et al.* 2006). Cada área se califica en una escala de 1 a 5 y las dos puntuaciones se sumaron.

Medidas del sistema inmune y otros parámetros fisiológicos

Se evaluó el efecto de los tratamientos sobre los parámetros fisiológicos asociados con el sistema inmunológico y la salud general de los mamíferos. Una vez que los animales fueron anestesiados, una muestra de sangre 15 a 20 ml se tomó de la vena cava y se almacenó en tubos con y sin anticoagulante (EDTA 10%). Las muestras con anticoagulante fueron mantenidas refrigeradas y se procesaron dentro de las 8 h de la recolección. Las otras muestras se centrifugaron y el suero obtenido se mantuvo congelado a -20 °C hasta su posterior procesamiento. En la necropsia, los bazo se pesaron utilizando una balanza digital y las glándulas suprarrenales se almacenaron en formaldeído bufferado al 10%.

Las muestras con anticoagulante se utilizaron para producir los recuentos de células sanguíneas. Ellos proporcionan una indicación de la capacidad aeróbica y el equilibrio energético (glóbulos rojos, GR), y la inversión inmunológica (glóbulos blancos, GB) (Beldomenico *et al.* 2008). Toda la sangre se diluyó 1:10 en solución salina, y luego se usó para producir dos diluciones finales: 1:20 en ácido acético al 3% y 0,5% de azul de metileno (solución de Türk) y 1:200 en solución salina para recuento de glóbulos blancos y glóbulos rojos, respectivamente, utilizando cámaras de Neubauer

mejorada (Arouca *et al.* 2000; Madella *et al.* 2006). La sangre restante se utilizó para producir los frotis de sangre para realizar el diferencial de los GB y obtener la fórmula leucocitaria para estimar los niveles de linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

Los frotis se fijaron y tiñeron con May Grunwald-Giemsa. Se contaron 200 leucocitos por frotis. Las muestras de suero se utilizaron para la determinación de las proteínas totales en plasma (PPT), albúmina (A) y globulinas (Gb) (Rahbek 2007) usando un ensayo colorimétrico (Proti2, Wiener lab., Rosario, Argentina). También se analizó la relación A / Gb. Las variaciones en la relación A / Gb pueden indicar la subproducción (alta relación) o sobreproducción (baja proporción) de anticuerpos, o subproducción de la albúmina (baja proporción) (Latimer, Mahaffey, y Prasse 2003).

Otras medidas de inversión inmunológica utilizadas fueron el índice de masa del bazo, que se calcula dividiendo la masa del bazo por la masa corporal inicial (masa del bazo / MCI) (Ould *et al.*, 1980; Hangalapura *et al.* 2005) y los títulos de anticuerpos naturales (AcN) (Boulos, Roudsari, y Carson 2001, Matson, Ricklefs, y Klasing 2005). La determinación de los títulos de AcN fue realizada por duplicado mediante un ensayo de hemoaglutinación siguiendo el método descrito por Matson *et al.* (2005) con algunas modificaciones.

Los AcN tienen una alta reacción cruzada y ligan con baja afinidad a estructuras de carbohidratos compartidos por una gran variedad de patógenos y células de mamíferos (Janeway, 2011). Por este motivo fue necesario obtener una suspensión de glóbulos rojos (GR) de una especie que exprese altos niveles de α -N acetil-galactosamina (Cotter y col., 2005) tal como es el conejo.

La suspensión de GR de conejo se preparó a partir de sangre entera anticoagulada con EDTA, la cual fue centrifugada a 4000 rpm durante 5 minutos. Los glóbulos rojos se lavaron tres veces con 0,01 M de buffer fosfato salino (PBS 1x) y se ajustó a una concentración final de células de 1,2 %. La suspensión de GR fue utilizada durante un periodo no mayor a 24 horas y almacenada a 4°C.

Para el ensayo de hemoaglutinación se procedió de la siguiente manera: se utilizaron microplacas de 96 pocillos con fondo en forma de U (DELTALab). Fueron añadidos primero 25 μ l de PBS 1x a los pocillos de la columna 2 a la 11 y luego 25 μ l de cada muestra de suero o plasma se añadieron a las columnas uno y dos. Posteriormente se hicieron diluciones seriadas al medio en PBS mediante la transferencia de 25 μ l con un microdiluidor de un pocillo al consecutivo empezando por la columna dos y hasta la 11, dejando así el pocillo 12 como control negativo (PBS solo). Una vez realizadas las diluciones correspondientes se agregaron a todos los pocillos 25 μ l de la suspensión de GR de conejo homogeneizada. Luego se agitaron las placas mecánicamente por algunos segundos y se incubaron por el plazo de 2 horas a temperatura ambiente. La aglutinación resultó de la acción de los AcN. El título fue registrado como \log_2 de la última dilución en la que se evidenció claramente aglutinación. Esta determinación se realizó utilizando principalmente las muestras de suero, y sólo cuando éstos no fueron suficientes para réplicas o cuando no se pudieron obtener muestras de suero se utilizó plasma. Sin embargo, no hay diferencias observadas en los títulos de aglutinación cuando se compararon muestras de suero y plasma del mismo individuo.

Parásitos

Hemos elegido para estudiar los parásitos de ciclo directo, ya que las cargas de los que tienen un ciclo indirecto (es decir, cestodos y digeneos) dependen directamente de la ingesta de hospederos intermediarios, lo que sería muy difícil de recrear en nuestras condiciones experimentales. En la necropsia, se retiró todo el tracto gastrointestinal. El estómago, intestino delgado y grueso y el ciego se aislaron mediante ligaduras. A continuación, cada sección se abrió y el contenido se lavó en recipientes graduados por separado. Las membranas mucosas se rasparon y se lavaron extensivamente con agua corriente para eliminar posibles parásitos adheridos (Ueno y Gutiérrez 1988). Debido al gran volumen de los contenidos del ciego y del intestino delgado, se estimó la intensidad de helmintos en estas secciones tomando alícuotas, que han demostrado ser buenos estimadores de toda la sección del intestino en otros mamíferos (Ueno *et al.* 1988). Los contenidos se colocaron en baldes graduados, luego se agitaron para homogeneizar, y se recogió una alícuota del 10%. El intestino grueso se abrió y examinó macroscópicamente durante la necropsia. Estas alícuotas se fijaron en formol al 5% y luego se examinaron bajo lupa en el laboratorio para identificar y contar los helmintos. La identificación de especies se realizó utilizando claves y descripciones específicas (Boero y Boehringer 1967; Anderson *et al.* 1974; Barus *et al.* 1975; Diaz-Ungria y Quentin, 1976); Moravec, 1982; Vicente *et al.* 1997; Anderson 2000; Ribeiro y Amato, 2003a; Ribeiro y Amato, 2003b; Gibbons 2010; Robles, 2011).

Para las comparaciones de base durante las 4 semanas del período de aclimatación, se utilizaron los recuentos de huevos de helmintos y ooquistes de coccidios. Se evaluaron muestras de heces frescas de cada individuo mediante la técnica de flotación cuali-cuantitativa de Wisconsin modificada que utiliza una solución sobresaturada de azúcar (Cox & Todd 1962) en el Laboratorio de Estudios Parasitológicos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. También utilizamos esta técnica para estimar la intensidad de la infección por coccidios al final del experimento.

Análisis estadístico

Dada la naturaleza de los tratamientos aplicados, los carpinchos que recibieron un tratamiento determinado estaban confinados en el mismo recinto (por ejemplo, persiguiendo un carpincho se estresa a todo el lote en el recinto). Aunque los recintos eran idénticos y contiguos, un individuo que recibió un tratamiento dado compartió el recinto con otros 3 o 4 individuos que recibieron el mismo tratamiento. Debido a que las observaciones de un mismo recinto no son independientes, un efecto atribuido al tratamiento es en efecto, el efecto del "recinto". Para dar cuenta de esta falta de independencia de las observaciones de los individuos en el mismo recinto se utilizó modelos lineales mixtos (LMM por sus siglas en inglés) o modelos mixtos lineales generalizados (GLMM) con "recinto" como un efecto aleatorio, para que tenga en cuenta que los grupos de observaciones pertenecen al mismo recinto (Chavez, 2010 y Paterson y Lello 2003). El tipo de modelo utilizado (LMM o GLMM) se decidió sobre la base de la distribución de la respuesta. Cuando la distribución de la respuesta fue una distribución aproximadamente normal o podría ser transformada a la normalidad por exponenciación, se utilizó un LMM. Todos los recuentos de parásitos mostraron un patrón de distribución agregado, para los que GLMM con una respuesta binomial negativa fue el tipo de modelo más apropiado (Wilson *et al.* 2002).

Para evaluar el impacto del estrés inducido sobre el aumento de la masa corporal, la condición corporal y los parámetros inmuno-fisiológicos, se utilizó LMM, transformando por exponenciación la

variable respuesta para acercarse a la normalidad, cuando era apropiado. Se utilizó los paquetes *lme4* (Duglas *et al.* 2013) y *languageR* (Baayen, 2011) del software estadístico R (funciones *lmer* y *pvals.fnc*, respectivamente). Los primeros modelos tenían como efectos principales “tratamiento” y MCI, y el término de interacción tratamiento * MIC, para tener en cuenta el potencial efecto de modificación de un MIC diferente, así como su potencial efecto de confusión o enmascaramiento. Un test de la razón de verosimilitud se utilizó para evaluar la importancia del término de interacción. Cuando el término de interacción era no-significativo, se eliminó del modelo y se retuvieron sólo los efectos principales (ya sea significativo o no).

Para evaluar el impacto del estrés inducido sobre la intensidad de la infección de las especies de parásitos seleccionados, se utilizó GLMM con respuesta binomial negativa (*glmmADMB* (Fournier *et al.* 2012) paquete de R). Los modelos iniciales incluyeron los mismos efectos principales y la interacción como fue explicado para el LMM arriba. La eliminación de los términos de interacción que no tenían importancia de los modelos, se realizó mediante la prueba de razón de verosimilitud como se describió anteriormente.

RESULTADOS

Los estadísticos descriptivos de los parámetros medidos en los carpinchos se muestran en la Tabla 1. Comparaciones iniciales llevadas a cabo durante las cuatro semanas antes de establecer los tratamientos mostraron que los grupos experimentales no fueron significativamente diferentes en términos de masa corporal y el índice de masa corporal y con respecto a los recuentos de los huevos/ooquistes fecales de todas las especies de parásitos investigadas ($p > 0.1$ para todas las comparaciones).

Evaluación de estrés

Un análisis de la histoarquitectura de la corteza suprarrenal después de la finalización del experimento reveló que las porciones fasciculares de los individuos que pertenecen a ambos tratamientos fueron significativamente mayores que la de los controles, lo que indica que los tratamientos indujeron estrés medible en los carpinchos (Tabla 2). La diferencia entre los controles y los individuos estresados físicamente fue mayor en los individuos que al inicio del experimento eran más livianos que aquellos que eran más pesados. Esta tendencia también se observó en los individuos con restricción de alimentos, pero el término de interacción no fue significativo ($p = 0,089$) (Tabla 2).

Parámetros de Salud	Grupos control		Grupos con restricción de alimentos		Grupos Estresado Físicamente	
	IL	IP	IL	IP	IL	IP
	Media (Rango)	Media (Rango)	Media (Rango)	Media (Rango)	Media(o)	Media (Rango)
Proporción fascicular de la adrenal (%)	73.7 (64.0,86.7)	75.6 (72.7,77.4)	76.9 (68.9,82.3)	78.8 (77.4,81.2)	82.2 (78.2,85.7)	74.8 (66.7,81.1)
Masa corporal ganada (kg)	4.2 (3.0,5.5)	4.4 (3.0,6.5)	1.0 (-0.5,3.0)	1.5 (1.5 , 1.5)	3.6 (1.5,6.9)	1.2 (-1.0,4.0)
Condición corporal	6.5 (6.0,7.0)	7.6 (7.0,8.0)	4.6 (3.0,5.5)	6.0 (6.0,6.0)	5.8 (5.5,6.5)	7.3 (6.0,8.0)
Índice de masa corporal (masa corporal/largo toral)	0.198 (0.19,0.21)	0.262 (0.23,0.30)	0.158 (0.10,0.18)	0.240 (0.22,0.27)	0.193 (0.14,0.25)	0.246 (0.22,0.29)
GB (millones de células / μ l)	2.97 (2.06,3.75)	3.43 (2.30,5.05)	4.09 (3.00,4.95)	3.80 (3.27,4.34)	3.49 (3.41,3.64)	4.08 (3.25,5.30)
GB(miles de células/ μ l)	6.58 (9.20,4.80)	6.58 (7.50,5.40)	6.37 (9.85,3.55)	8.57 (6.45,11.40)	6.57 (4.20,9.35)	6.59 (5.42,7.55)
L (miles de células/ μ l)	3.10 (1.84,4.44)	3.24 (2.51,4.29)	3.05 (2.16,4.44)	4.20 (3.20,5.03)	3.17 (1.99,3.93)	3.20 (2.33,4.28)
N (miles de células/ μ l)	2.97 (2.46,3.79)	2.75 (2.08,3.73)	2.25 (1.09,3.41)	3.50 (2.59,5.24)	2.59 (1.83,4.12)	2.62 (1.97,3.22)
E (células/ μ l)	229 (170,391)	315 (70,716)	730 (121,2036)	702 (428,975)	580 (304,971)	477 (181,587)
B (células/ μ l)	124 (0,222)	158 (0,422)	151 (0,415)	72 (0,185)	120 (60,185)	128 (26,219)
M (células/ μ l)	126 (50,261)	108 (0,214)	168 (69,258)	83 (0,153)	101.23 (0,145)	166 (20,330)
Log ₂ títulos de AcN	7.0 (6,9)	7.8 (6,9)	8.8 (7,12)	11.3 (10,13)	6.7 (6,7)	5.8 (4,7)
Índice de masa espléndica	3.61 (2.84,4.37)	3.07 (2.27,3.75)	2.99 (1.97,4.69)	2.81 (2.50,3.28)	3.23 (3.02,3.37)	2.74(2.22,3.81)
PPT (g/dl)	4.26 (3.14,5.26)	5.14 (4.54,6.22)	5.10 (4.46,5.59)	5.44 (3.90,7.02)	4.72 (4.09,5.59)	5.58 (4.85,7.01)
A (g/dl)	2.81 (1.64,3.60)	2.99 (2.80,3.60)	3.17 (2.58,3.58)	3.15 (2.88,3.42)	3.06 (2.69,3.28)	3.20 (2.52,3.84)
A/Gb (g/dl)	2.04 (1.10,3.18)	1.46 (1.02,1.84)	1.72 (1.04,2.36)	1.78 (0.81,2.82)	1.99 (1.35,2.73)	1.59 (0.56,2.18)

Abreviaciones: IL: individuos más livianos al comienzo del experimento; IP: individuos más pesados al comienzo del experimento ; GR: glóbulos rojos; GB: glóbulos blancos; L:linfocitos; N:neutrófilos; E: Eosinofilos; B:Basofilos; M: Monocitos; AcN: anticuerpos naturales; PPT: proteínas plasmáticas totales; A: albumina; Gb: globulinas

Tabla 1. Parámetros de salud (incluidos los valores fisiológicos, los parámetros inmunológicos, el crecimiento y las medidas de condición corporal) de carpinchos en cautiverio bajo tres tratamientos diferente. En esta tabla, con fines de información, se utilizó la mediana de la masa corporal inicial (17 kg) como el criterio para dividir en dos clases a los carpinchos: individuos más livianos (IL) y más pesados (IP).

Medidas del aumento de la masa corporal y la condición corporal

El efecto de ambos tratamientos fue evidente en gran medida sobre la ganancia de masa corporal, y también fue significativo en la condición corporal y el índice de masa corporal, aunque para estos dos, el efecto fue fuerte para los individuos del tratamiento de restricción de alimentos (Tabla 3, Figura 3). Mientras que los individuos del control ganaron una media de 4,3 kg durante el experimento, los de alimentación restringida y los individuos estresados físicamente crecieron sólo un 25% ($p = 0,0005$) y 50% ($p = 0,0178$) que dicho valor, respectivamente.

Respuesta= Proporción fascicular (μm)

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor ^b	F-valor ^c
Intercept	0.582	0.062	< 0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	0.175	0.073	0.026	2.74
Trat. (estresados físicamente) ^a	0.327	0.076	< 0.001	2.74
IMC	0.008	0.003	0.019	0.73
IIMC: Trat. (Restricción de alimentos)	-0.007	0.004	0.089	8.33
IIMC: Trat. (estresados físicamente)	-0.015	0.004	0.001	8.33

^a Contraste simple – nivel de referencia: control (el coeficiente refleja la comparación con los grupos controles). ^b P-valores obtenidos de Markov chain Monte Carlo samples (*pvals.fnc* function in R). ^c Para el factor tratamiento: numerador los grado de libertad = 2; denominador grado de libertad= 24.

Tabla 2. Modelo lineal mixto que describe el efecto de los tratamientos en la porción fascicular de la glándula suprarrenal de capibaras (N = 27).

Respuesta= masa corporal ganada

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor ^b	F-valor ^c
Intercepto	4.333	0.564	< 0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-3.294	0.798	< 0.001	8.29
Trat. (estresados físicamente) ^a	-2.119	0.823	0.017	8.29
IMC	-0.060	0.058	0.314	1.06

Respuesta= índice de condición corporal

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor ^b	F-valor ^c
Intercepto	4.803	0.396	< 0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-1.785	0.267	< 0.001	34.24
Trat. (estresados físicamente) ^a	-0.578	0.274	0.0467	34.24
IMC	0.128	0.019	< 0.001	43.73

Respuesta= índice de masa corporal

Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor ^b	F-valor ^c
Intercepto	0.109	0.012	< 0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-0.032	0.008	< 0.001	19.98
Trat. (estresados físicamente) ^a	-0.018	0.008	0.040	19.98
IMC	0.007	< 0.001	< 0.001	138.72

^a Contraste simple – nivel de referencia: control (el coeficiente refleja la comparación con los grupos controles).

^b P-valores obtenidos de Markov chain Monte Carlo samples (*pvals.fnc* function in R). ^c Para el factor tratamiento: numerador los grado de libertad = 2; denominador grado de libertad= 24.

Tabla 3: Los modelos mixtos lineales que describen el efecto de los tratamientos sobre la ganancia de masa corporal, condición corporal y el índice de masa corporal (N = 27).

Efectos de los tratamientos sobre el sistema inmunológico y otros parámetros fisiológicos

Para las células de la sangre, no se observaron diferencias entre tratamientos para los glóbulos rojos, linfocitos, neutrófilos y monocitos (Tabla 4). Se encontró que la única diferencia significativa entre los tratamientos fue para los eosinófilos (Figura 3, Tabla 5). Los individuos de los grupos de tratamientos, restricción de alimento y físicamente estresados, tuvieron eosinófilos significativamente más altos que los controles ($p = 0,0113$ y $0,0494$, respectivamente) (Figura 3, Tabla 5).

Respuesta= GB					
Term	Coefficients	Standard error	P-value ^b	F-value ^c	
Intercepto	2612171	633184	< 0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	802354	688156	0.256	0.701	
Trat. (estresados físicamente) ^a	608652	691503	0.388	0.701	
IMC	32466	22543	0.163	2.075	
Respuesta= linfocitos					
Intercepto	2681.58	672.87	< 0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	314.21	454.09	0.496	0.204	
Trat. (estresados físicamente) ^a	-37.00	465.87	0.937	0.204	
IMC	27.82	32.96	0.408	0.712	
Response= neutrófilos					
Intercepto	2392.10	645.22	0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-126.54	435.43	0.774	0.163	
Trat. (estresados físicamente) ^a	-283.61	446.73	0.532	0.163	
IMC	25.32	31.61	0.432	0.642	
Respuesta= monocitos					
Intercepto	132.06	77.27	0.101		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	16.71	78.02	0.832	0.028	
Trat. (estresados físicamente) ^a	22.059	78.55	0.781	0.028	
IMC	-0.624	3.01	0.838	0.068	
Respuesta= relación neutrófilos: linfocitos					
Intercepto	132.06	77.27	0.101		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	16.71	78.02	0.832	0.812	
Trat. (estresados físicamente) ^a	22.06	78.55	0.781	0.812	
IMC	-0.624	3.01	0.838	0.062	
Respuesta= masa del bazo					
Intercepto	21.88	7.47	0.008		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-10.29	5.04	0.053	4.599	
Trat. (estresados físicamente) ^a	-7.36	5.17	0.169	4.599	
IMC	2.06	0.36	< 0.001	31.53	
Respuestas= proteínas plasmáticas					
Intercepto	3.23	0.51	< 0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	0.64	0.34	0.073	1.36	
Trat. (estresados físicamente) ^a	0.37	0.35	0.309	1.36	
IMC	0.08	0.02	0.003	11.55	
Respuestas= albumina					
Intercepto	2.918	0.32	< 0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	0.246	0.22	0.273	0.81	
Trat. (estresados físicamente) ^a	0.233	0.22	0.309	0.81	
IMC	-0.000	0.01	0.989	0.00	
Respuesta= globulinas					
Intercepto	0.311	0.32	0.511		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	0.398	0.22	0.219	0.42	
Trat. (estresados físicamente) ^a	0.132	0.22	0.686	0.42	
IMC	0.085	0.01	0.001	13.7	
Respuesta= relación albumina:globulina					
Intercepto	2.630	0.43	< 0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-0.098	0.34	0.775	0.001	
Trat. (estresados físicamente) ^a	0.099	0.34	0.775	0.001	
IMC	-0.050	0.02	0.019	6.34	

Tabla 4. Modelos lineales mixtos que describen el efecto de los tratamientos sobre los glóbulos rojos, glóbulos blancos (linfocitos, neutrófilos, monocitos), neutrófilos: cociente de linfocitos, masa del bazo, proteínas plasmáticas, albúmina, globulinas y albúmina/globulina

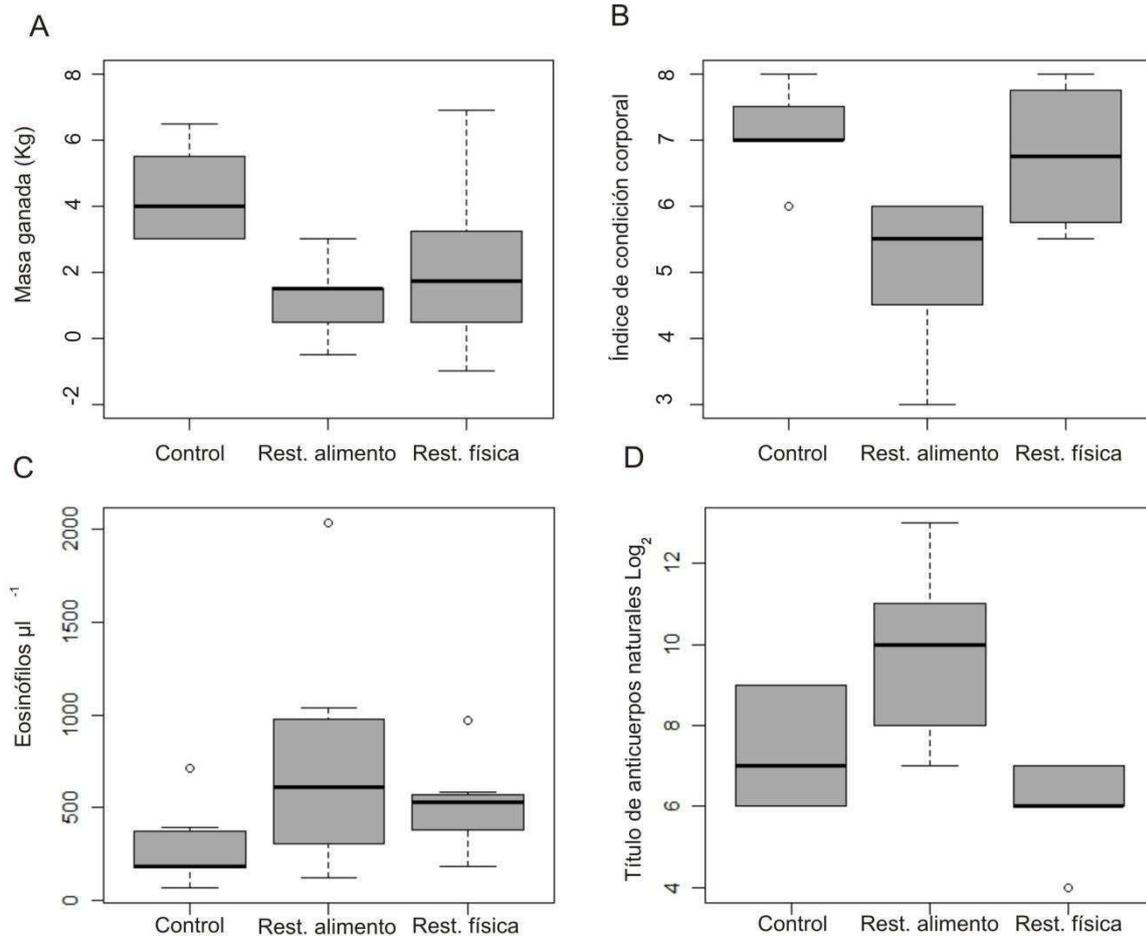


Figura 3: El efecto de los tratamientos sobre la ganancia de masa corporal, condición corporal y los parámetros inmunológicos. Diagramas de caja que muestran el efecto de tres tratamientos en, (A) la ganancia de masa corporal durante la duración del experimento; (B) puntuación de la condición corporal, (C) la concentración de eosinófilos en la sangre, y (D) los títulos de anticuerpos naturales. El diagrama de cajas representa la mediana (barra negra), 25-75% cuartiles (caja), 10-90% cuantiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

Respuesta= Eosinofilos ^{0.1}					
Term	Coefficientes	Error estandar	P-valor ^b	F-valor ^c	
Intercepto	1.650	0.042	< 0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	0.165	0.059	0.011	3.915	
Trat. (estresados físicamente) ^a	0.122	0.061	0.049	3.915	
IMC	0.004	0.004	0.348	0.917	
Respuesta= log ₂ (AcN) ^{0.01}					
Intercepto	1.020	0.001	<0.001		
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	0.003	0.001	0.011	10.84	
Trat. (estresados físicamente) ^a	-0.002	0.001	0.051	10.84	
IMC	0.000	< 0.001	0.498	0.47	

Table 4: Modelos lineales mixtos que describen el efecto de los tratamientos sobre los eosinófilos y los títulos de anticuerpos naturales (N= 27).

Los individuos de los grupos de restricción de alimentos mostraron significativamente mayores títulos de AcN que los controles y los animales estresados físicamente ($p = 0,011$ y $p = 0,002$, respectivamente; Tabla 5; Figura 3). Los individuos físicamente estresados mostraron una tendencia casi significativa ($p = 0,051$) a tener menores títulos de AcN que los controles.

Ni el tratamiento de restricción de alimentos ni el de estrés físico tuvo un efecto significativo sobre la TPP, A, Gb, relación A / Gb o el bazo (Tabla 4). Sin embargo, hubo una tendencia casi significativa de los individuos de restricción de alimentos, a tener menor masa del bazo que los controles ($p = 0,053$).

Impacto del estrés inducido sobre la intensidad de infección de las especies de parásitos seleccionados

Los nematodos que se encontraron en las necropsias de los carpinchos fueron: *S. chapini*, *Trichostrongylus sp.*, *Trichuris sp.*, *E. hydrochaeri*, *H. anomalobursata* y *V. hydrochoeri* (estos dos últimos se contaron en conjunto como 'Viannaiidae', ya que las hembras de ambos no pueden distinguirse bajo lupa). Aunque se observaron ocasionalmente bajos recuentos de huevos de *P. obesa* al comienzo del experimento, los adultos no estuvieron presentes en la necropsia. Los efectos de los tratamientos sobre la intensidad de nematodos dependió de la masa corporal que tuvieron los carpinchos al comienzo del experimento para todas las especies de nematodos encontrados, a excepción de *Trichuris sp.* (Tabla 6, Figura 4).

Al considerar la masa corporal inicial, los individuos más livianos al inicio del experimento de los grupos control tuvieron significativamente al final del experimento, mayores cargas de *S. chapini*, *E. hydrochaeri*, *Viannaiidae* y *Trychostrongylus sp.* que los grupos físicamente estresados (Tabla 5), mientras que no se observó ninguna diferencia significativa dentro de animales más pesados (Tabla 6; Figura 4). Los carpinchos de los grupos de restricción de alimentos mostraron la misma tendencia (Figura 4), pero la interacción sólo fue estadísticamente significativa para *S. chapini* (Tabla 6).

En el caso de *Trichuris sp.*, Ambos tratamientos mostraron menor recuento de parásitos que los controles (Figura 4, Tabla 6). La magnitud de la diferencia era mucho mayor entre los controles y los animales de alimento restringido.

En cuanto a los coccidios, el número de ooquistes fue mucho mayor en ambos tratamientos que en los grupos control (Tabla 6). La magnitud y la importancia de esta diferencia fue mucho mayor entre los controles y los individuos de restricción alimentaria (Figura 5). Los individuos con restricción de alimentos tuvieron significativamente mayores recuentos de ooquistes que los estresados físicamente ($p = 0,035$).

Respuesta= <i>S. chapini</i>				
Término	Coefficientes	Error estándar	P-valor	Deviance / Residual dev.
Intercepto	10.288	1.188	<0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-3.466	1.429	0.015	7.62/60.92
Trat. (estresados físicamente) ^a	-4.200	1.513	0.005	7.62/60.92
IMC	-0.325	0.062	<0.001	24.62/36.29
IMC *Trat. (Restricción de alimentos)	0.214	0.075	0.004	7.41/28.89
IMC *Trat. (estresados físicamente)	0.189	0.074	0.011	7.41/28.89
Respuesta= <i>E. hydrochaeris</i>				
Intercepto	5.249	0.875	<0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-2.087	1.061	0.049	2.24 / 34.91
Trat. (estresados físicamente) ^a	-3.155	1.138	0.005	2.24 / 34.91
IMC	-0.078	0.047	0.099	1.12 / 33.79
IMC *Trat. (Restricción de alimentos)	0.111	0.058	0.058	5.81 / 27.99
IMC *Trat. (estresados físicamente)	0.140	0.058	0.016	5.81 / 27.99
Respuesta= <i>Trichostrongylus</i> sp.				
Intercepto	18.066	5.606	0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-11.607	6.007	0.053	8.95/44.91
Trat. (estresados físicamente) ^a	-16.538	5.811	0.004	8.95/44.91
IMC	-1.057	0.383	0.006	9.60/35.31
IMC *Trat. (Restricción de alimentos)	0.674	0.412	0.102	15.05/20.26
IMC *Trat. (estresados físicamente)	0.993	0.389	0.010	15.05/20.26
Respuesta= <i>Viannaiidae</i>				
Intercepto	8.722	1.439	<0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-3.558	1.739	0.040	10.59/45.68
Trat. (estresados físicamente) ^a	-6.707	1.774	<0.001	10.59/45.68
IMC	-0.311	0.074	<0.001	4.60/41.07
IMC *Trat. (Restricción de alimentos)	0.139	0.101	0.166	11.98/29.09
IMC *Trat. (estresados físicamente)	0.325	0.095	<0.001	11.98/29.09
Respuesta= <i>Trichuris</i> sp.				
Intercepto	10.452	3.012	<0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	-2.998	1.045	0.004	3.99/50.28
Trat. (estresados físicamente) ^a	-3.021	1.378	0.028	3.99/50.28
IMC	-0.648	0.209	0.001	39.91/10.37
Respuesta= <i>Coccidian</i>				
Intercepto	4.908	0.761	<0.001	
Trat. (Restricción de alimentos) ^a	2.646	0.494	<0.001	26.27/33.40
Trat. (estresados físicamente) ^a	1.565	0.511	0.002	26.27/33.40
IMC	-0.074	0.038	0.051	3.42/29.97

Tabla 6: Modelo lineal generalizado con una respuesta binomial negativa que describe el efecto de los tratamientos sobre la intensidad de los nematodos y coccidios (N = 27).

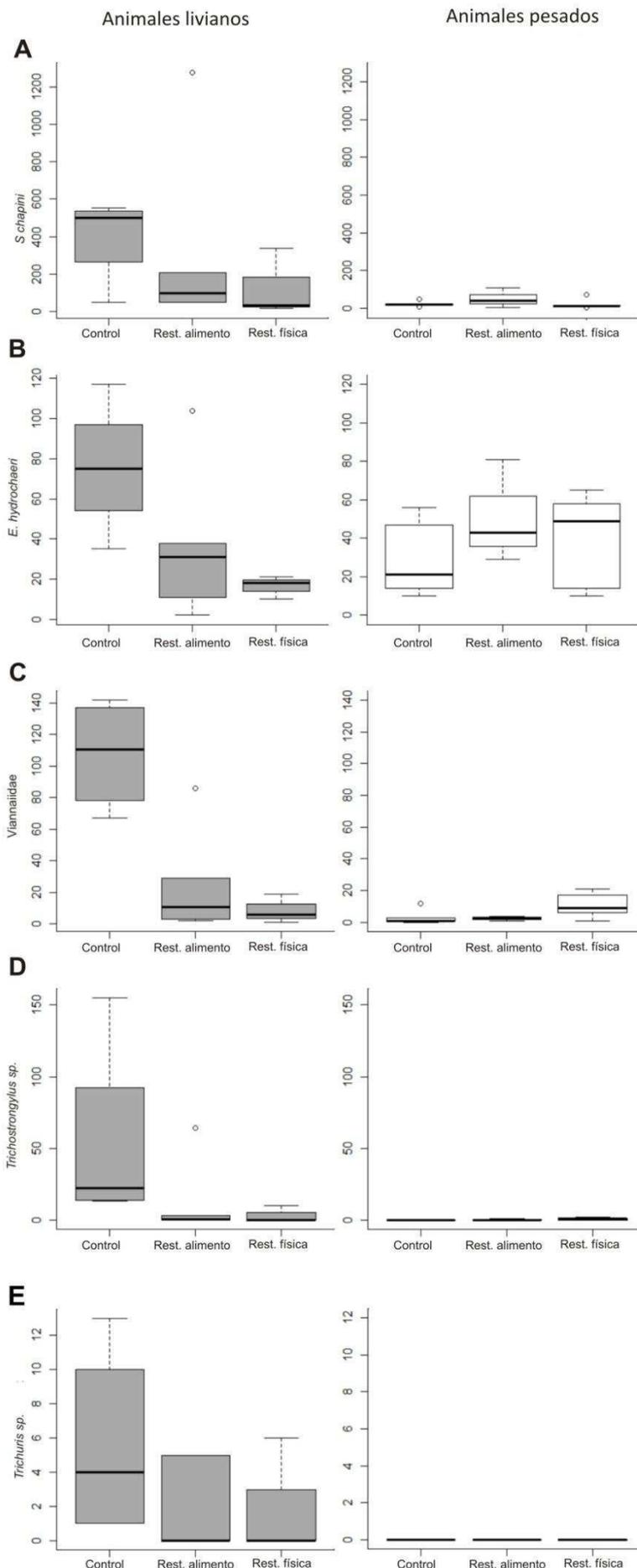


Figura 4: Intensidad de diferentes especies de parásitos en los tratamientos. En este diagrama de caja, se utilizó la mediana de la masa corporal inicial (17 kg) como el criterio para dividir en clases de masa corporal (individuos más livianos y más pesados). (A) *Strongyloides chapini*; (B) *Echinocholeus hydrochaeri*; (C) familia Viannaiidae; (D) *Trichostrongylus sp.*; y (E) *Trichuris sp.* El diagrama de caja representan la mediana (barra negra), 25-75% cuantiles (caja), 10-90% cuantiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

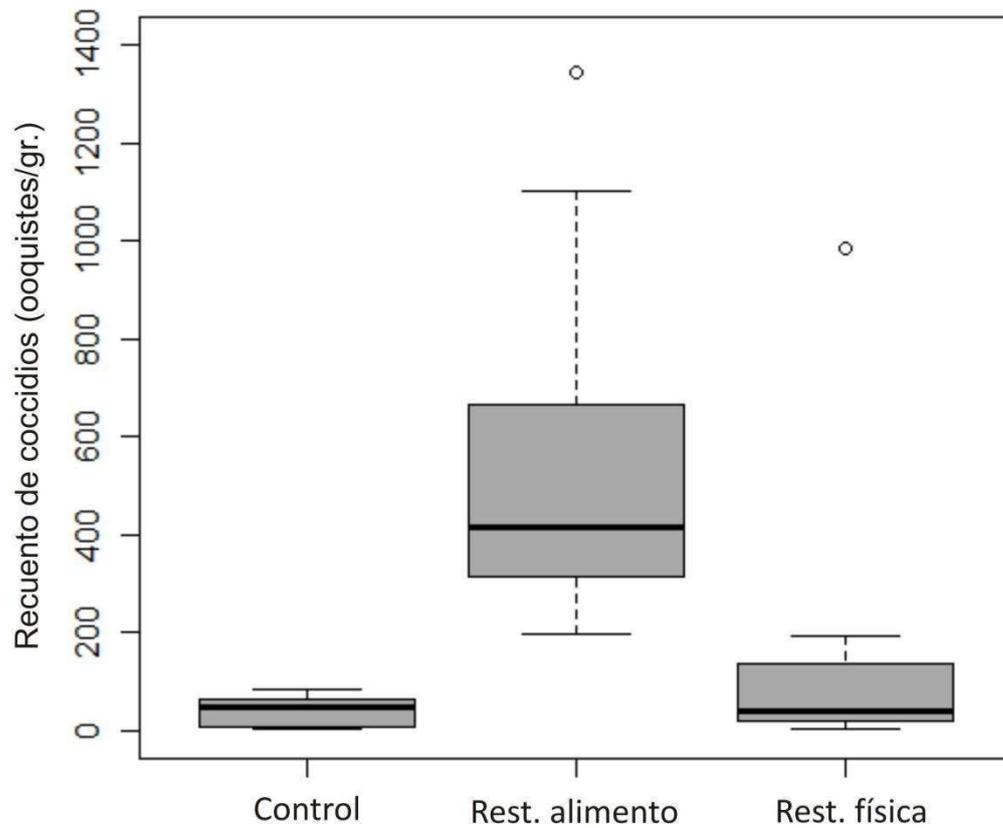


Figura 5: Intensidad de la infección por coccidios en carpinchos bajo diferentes tratamientos. Diagramas de caja que muestran la intensidad de la infección por coccidios (número de ooquistes por gramo de feca) al final del experimento en los carpinchos sometido a tres tratamientos diferentes: estrés físico (Rest. física), control y estrés nutricional (Rest. física). El diagrama de cajas representa la mediana (barra negra), 25-75% cuartiles (caja), 10-90% cuartiles (bigotes) y valores atípicos (puntos).

Modelo = condición corporal ~ Tratamiento * <i>S. chapini</i> .			
Term	Coefficientes	Error estándar	P-valor
Intercepto	7.591	0.353	< 0.001
Trat. (restricción de alimento) ^a	-2.275	0.471	< 0.001
Trat. (estrés físico) ^a	-0.515	0.488	0.303
<i>S. chapini</i>	-0.002	0.001	0.045
<i>S. chapini</i> : Treat. (Food restricted)	0.001	0.001	0.355
<i>S. chapini</i> : Treat (Manipulated)	-0.003	0.003	0.385
Modelo = condición corporal ~ Tratamiento * <i>E. hydrochaeris</i>			
Intercepto	7.654	0.595	< 0.001
Trat. (restricción de alimento) ^a	-2.495	0.810	0.006
Trat. (estrés físico) ^a	-1.079	0.850	0.219
<i>E. hydrochaeris</i>	-0.011	0.009	0.395
<i>E. hydrochaeris</i> : Treat. (Food restricted)	0.008	0.015	0.575
<i>E. hydrochaeris</i> : Treat (Manipulated)	0.016	0.019	0.287
Modelo = condición corporal ~ Tratamiento * <i>Trichostrongylus</i> sp.			
Intercepto	7.355	0.337	<0.001
Trat. (restricción de alimento) ^a	-2.152	0.467	<0.001
Trat. (estrés físico) ^a	-0.433	0.497	0.394
<i>Trichostrongylus</i> sp.	-0.010	0.006	0.120
<i>Trichostrongylus</i> sp. : Treat. (Food restricted)	-0.009	0.016	0.597
<i>Trichostrongylus</i> sp. : Treat (Manipulated)	-0.088	0.100	0.391
Modelo = condición corporal ~ Tratamiento * <i>Viannaiidae</i>			
Intercepto	7.453	0.402	<0.001
Trat. (restricción de alimento) ^a	-2.112	0.537	<0.001
Trat. (estrés físico) ^a	-1.229	0.668	0.080
<i>Viannaiidae</i>	-0.007	0.005	0.217
<i>Viannaiidae</i> : Treat. (Food restricted)	-0.010	0.013	0.427
<i>Viannaiidae</i> : Treat (Manipulated)	0.059	0.043	0.181
Modelo = condición corporal ~ Tratamiento * <i>Trichuris</i> sp.			
Intercepto	7.441	0.28967	< 0.001
Trat. (restricción de alimento) ^a	-2.013	0.40672	< 0.001
Trat. (estrés físico) ^a	-0.513	0.40672	0.222
<i>Trichuris</i> sp.	-0.135	0.05859	0.032
<i>Trichuris</i> sp.: Treat. (Food restricted)	-0.201	0.13456	0.151
<i>Trichuris</i> sp.: Treat (Manipulated)	-0.103	0.14679	0.491

Tabla 7. Los modelos lineales que muestran la relación entre la carga de parásitos y condición corporal. La inclusión del término interacción tratamiento * Parasito permitió evaluar si hubo un cambio en la tolerancia a los parásitos inducidos por el estrés. La condición corporal se asoció negativamente con *Trichuris* sp y *Strongyloides chapini*. En ningún caso, el término interacción tratamiento * Parasito fue significativa, indicando que no hay influencia de los tratamientos sobre la tolerancia al parásito.

DISCUSIÓN

Los resultados ecológicamente más significativos de este experimento fueron, por una parte, que el estrés tuvo un marcado impacto negativo en la ganancia de masa corporal y la condición corporal de los carpinchos, pero un efecto positivo en los componentes no específicos del sistema inmune: el recuento de eosinófilos fue mayor en los carpinchos de ambos grupos de tratamiento y los títulos de AcN fueron mayores en los animales con alimentación restringida, en comparación con los controles. Por otro lado, la consecuencia de ambos tratamientos sobre las dinámicas del parasitismo gastrointestinal dependió del tipo de parásito y del tamaño de los individuos al principio del experimento. Los carpinchos estresados tuvieron significativamente más altas intensidades de infección por coccidios que los controles (esta diferencia fue mucho más fuerte en el grupo con restricción de alimentos), pero los controles tuvieron, en general, una mayor intensidad de helmintos que los individuos tratados sobre todo aquellos que eran más livianos, y por lo tanto más joven, al principio del experimento (especialmente en los carpinchos estresados físicamente). Nuestra predicción que hizo hincapié en que los carpinchos estresados estarían en peores condiciones, inmunosuprimidos y con altas cargas parasitarias al final del experimento sólo se apoyó parcialmente. Sólo para la infección por coccidios se observó el escenario esperado, aunque no se encontró una disminución significativa en ninguno de los parámetros inmunológicos estudiados.

Estrés, aumento de la masa corporal y condición corporal

Grandes diferencias dependientes del contexto se han observado en el crecimiento y la condición corporal en algunas poblaciones de roedores salvajes. Los ratones y los lemmings, por ejemplo, son más grandes (20 a 30% más pesados) durante la fase de crecimiento y la fase de pico de sus ciclos de población que durante las fases de declive y caída de la población durante sus fluctuaciones plurianuales (Chitty 1952). Este fenómeno, conocido como el efecto 'Chitty', se cree que es una consecuencia de una asignación dinámica de la energía entre las funciones fisiológicas (Oli 1999). En los buenos años, los roedores tienen un excedente de energía que permitirá el crecimiento continuo y la deposición de masa corporal adicional, mientras que cuando el contexto no es favorable suprimen el crecimiento. Aquí experimentalmente reproducido este contexto-dependiente del esfuerzo somático, mostrando que el aumento de la masa corporal y la condición corporal son muy sensibles tanto al estrés nutricional como al estrés físico en los carpinchos.

En estudios anteriores se encontró que, bajo estrés nutricional, ratas y pollos criados en condiciones libres de patógenos tenían una mayor tasa de crecimiento que los animales criados convencionalmente (Furuse y Yokota 1984, Snyder y Wöstmann 1987). Esto sugiere un equilibrio entre el crecimiento y la inmunidad, con la inmunidad que tiene prioridad sobre el crecimiento del cuerpo cuando los nutrientes son limitados (Lochmiller y Deerenberg 2000). Los resultados del presente estudio están de acuerdo con lo anterior, ya que los animales sometidos a estrés nutricional mostraron diferentes prioridades en el uso de los recursos que los individuos no estresados, reduciendo su inversión en el esfuerzo somático al tiempo que mejoraron algunos de sus compartimentos del sistema inmune.

Estrés e inversión inmunológica: profilaxis inducida por el estrés

Los parámetros fisiológicos medidos no mostraron la respuesta esperada a los tratamientos. Sólo había una tendencia casi significativa de los animales restringidos de alimentos de tener el índice de masa espléndice inferior a los controles (25% de reducción en la masa del bazo). Se encontró una relación entre los animales restringidos de alimentos y la reducción del tamaño del bazo en un experimento con pollos (Hangalapura *et al.* 2005). Puede ser que este efecto no fue lo suficientemente fuerte para ser detectado por el limitado poder estadístico de nuestro experimento.

De los parámetros medidos, uno solo mostró ser sensible a la influencia de ambos tipos de estrés, y un segundo sólo al estrés nutricional, pero en la dirección opuesta a la predicha. Mientras que los individuos estresados estaban reduciendo significativamente su ganancia de masa corporal y la condición corporal, estaban desviando parte de su energía disponible limitada a algunos compartimentos no específicos del sistema inmune, ya que tenían mayores recuentos de eosinófilos y mucho más altos títulos de AcN (este último sólo en los de estrés nutricional) que los controles.

Los AcN son únicos entre las inmunoglobulinas, ya que su producción no requiere una exposición previa al antígeno (Casali y Schettino 1996). Niveles de AcN se han encontrado en animales criados en ambientes libres de patógenos (Pereira *et al.* 1986). Dado que confieren inmunidad humoral específica independiente de la exposición a agentes patógenos, los AcN tienen el potencial de ser buenos indicadores de la inmunocompetencia humoral de los animales silvestres (Townsend *et al.* 2010). Aunque se sabe que el estrés crónico determina una reducción en los niveles de anticuerpos específicos (Burns 2004; Merino *et al.* 2006) la forma en que el estrés afecta a los AcN se ignora completamente. Nuestros resultados sugieren que el estrés nutricional estimula su producción. Los eosinófilos, por otra parte, son protagonistas clave en la respuesta inmune inducida por helmintos, relacionados con un perfil inmunológico Th2, siendo el principal leucocito que aumenta sus niveles con la presencia de infecciones por helmintos (Rothenberg y Hogan 2006). Contrariamente a nuestro hallazgo, el estrés crónico se sabe que causa una reducción en la circulación de los niveles de eosinófilos, debido a que los glucocorticoides suprimen la proliferación de eosinófilos y disminuye su supervivencia (Rothenberg *et al.* 2006).

Este conocimiento previo sobre los AcN y los eosinófilos nos llevó a anticiparnos que sus niveles serían menores en los grupos tratados, como resultado de la inmunosupresión provocada por el estrés crónico y la falta de recursos para invertir en la inmunidad (Webster, Tonelli, y Sternberg, 2002). Es razonable esperar que los individuos alimentados *ad libitum* y sin molestias deben ser capaces de invertir más en la función inmune que los individuos estresados. En este experimento, sin embargo, la única indicación que hizo hincapié en que los individuos estaban invirtiendo menos en la función inmune fue una reducción no estadísticamente significativa en el tamaño del bazo (25%). Por otra parte, la inversión en los eosinófilos fue mayor en los individuos estresadas y los títulos AcN eran mucho más altos en los animales con estrés nutricional. Es de destacar que tanto TPP y la relación A / Gb no fueron diferentes entre los grupos tratados (Tabla 4), lo que indica que era poco probable que las inmunoglobulinas distintas a los AcN también estén elevadas en animales con restricción de alimentos. Del mismo modo, los leucocitos distintos de los eosinófilos no se vieron afectados por los tratamientos.

La interacción entre el estrés y la inmunidad depende de los estilos de afrontamiento “coping styles” (los esfuerzos fisiológicos y de comportamiento para dominar la situación estresante) (Koolhaas

2008). Las especies que son presas a menudo muestran un estilo de afrontamiento pasivo, que se asocia con una alta reactividad del eje HPA y una respuesta inmune sesgada a Th2. Esto último se debe a que las especies que son presas son más propensas a estar expuestas a macroparásitos, ya que tienen una naturaleza exploratoria y una mayor ingesta de nuevos recursos (Korte *et al.* 2005).

El aumento de eosinófilos en los carpinchos estreadados refleja una respuesta inmunitaria Th2 mayor en estos individuos. Es poco probable que esta diferencia en los recuentos de eosinófilos fue causada por un parasitismo diferencial de helmintos, ya que los individuos tratados tuvieron cargas de nematodos inferiores o similares a los controles (los recuentos de huevos fecales durante toda la duración del experimento nunca fueron más altos en los grupos tratados; datos no mostrados). Esta respuesta inmune anti-helmintica en ausencia de aumento de la infección por helmintos podría estar indicando la preparación en previsión de un mayor riesgo de exposición al parásito.

En los roedores, el efecto de los factores estresantes sobre la función inmune depende de su duración (Martin 2009). Mejoran la inmunidad a corto plazo (horas-días) y causan inmunosupresión cuando se mantienen durante más tiempo (semanas-meses) (Martin 2009). Nuestros resultados sugieren que el estrés crónico en carpinchos produce una desviación de los recursos para algunos compartimentos no específicos del sistema inmune. Se obtuvieron resultados similares por Hangalapura *et al.* (2005) en pollos. Los autores que llevaron a cabo un experimento concluyeron que la restricción de alimentos sostenida en el tiempo no tuvo un efecto significativo en las respuestas de anticuerpos específicos, sino más bien suprimió partes de la inmunidad mediada por células e intensificó otras de la inmunidad innata (aumentó la producción de oxígeno reactivo intermediario por los fagocitos en la sangre entera). Esto sugiere que los individuos estresados durante largos períodos de tiempo invierten en la inmunidad no específica en vez de en la adquirida mediada por células o la inmunidad humoral específica, lo que tiene sentido biológico. En primer lugar, porque tiene poca lógica que los organismos bajo estrés crónico supriman todo el sistema inmunitario, ya que podría ser crítico para la recuperación de los factores de estrés (Martin, Weil, y Nelson 2008).

En segundo lugar, teniendo en cuenta la gran diversidad de parásitos que infectan a un hospedador en condiciones naturales, una estrategia óptima puede ser invertir preventivamente en las defensas contra una variedad de patógenos en lugar de invertir en una respuesta inmune específica a los antígenos de cada miembro de la comunidad de parásitos. Esto podría interpretarse como una especie de profilaxis inducida por el estrés.

Una estrategia preventiva similar es usada por algunos insectos. Cuando algunas especies de lepidópteros son criados en condiciones de hacinamiento, se preparan para una mayor circulación de patógenos mediante un realce de su sistema inmunológico, lo que resulta en mariposas que son significativamente más resistentes a las infecciones que las criadas en forma solitaria, un fenómeno denominado "profilaxis dependiente de la densidad" (Wilson & Reeson 1998; Wilson *et al.* 2002).

Este realzamiento de la inmunidad no específica dependiente del estrés podría explicar algunos resultados contradictorios observados en estudios eco-inmunológicos. Por ejemplo, Vinkler y colaboradores encontraron una asociación negativa entre la respuesta a la prueba de la fitohemaglutinación-hinchazón y la saturación del ornamento de machos de la especie *Carpodacus erythrinus*, lo que indica una capacidad de respuesta inmune más fuerte en los machos inferiores. En ese estudio, se muestra una importante participación de los basófilos en la respuesta al hinchazón, lo

que indica la naturaleza no específica de la reacción. Los autores concluyeron que la deficiente ornamentación se asoció con una mayor respuesta inmune porque ambos eran indicativos de baja calidad, estableciendo que la respuesta inmune podría ser perjudicial para las aves (la inflamación es un proceso destructivo). Sin embargo una interpretación alternativa de sus hallazgos es que, como en nuestro experimento, los individuos estresados, invirtieron más en la inmunidad no específica a expensas de otras funciones fisiológicas tales como la ornamentación. En tal caso, no sería una cuestión de calidad (genotipos), sino más bien de historia de vida (fenotipos) diferencial.

Las compensaciones fisiológicas observadas en nuestro experimento surgen en circunstancias estresantes, permitiendo así que los animales se adapten a las condiciones ambientales cambiantes. En contextos favorables, los recursos están fácilmente disponibles y los individuos deben ser capaces de mantener su temperatura corporal central, combatir una infección y producir y criar descendencia viable de forma concomitante (Francés, Moore, y Demas 2009). Sin embargo, si los recursos son limitados, el mismo individuo se enfrentará a graves desafíos y la necesidad de establecer prioridades con el fin de superar el difícil momento. Su éxito dependerá del grado de estrés que enfrenta el animal. Por ejemplo, un estudio experimental con lagartijas arbóreas (French, Johnston, y Moore, 2007) mostró que cuando el alimento era ilimitado, las hembras fueron capaces de invertir tanto en la reproducción y sanar sus heridas. Cuando la comida se limitaba, todavía podían curar una herida cutánea pero fue necesario reducir la inversión reproductiva y bajo una limitación alimentaria extrema se suprimió tanto la inversión reproductiva como la cicatrización de heridas. No investigamos diferentes niveles de estrés en nuestro experimento. Es de esperar, sin embargo, que los carpinchos fueran incapaces de invertir en eosinófilos o en AcN, en caso de haber sido sometidos a un estrés más severo.

Por supuesto, los costos diferenciales de las diversas respuestas inmunes (Th1 vs Th2, específica vs genérica, etc) deben tenerse en cuenta cuidadosamente para comprender las ventajas y desventajas que subyace a los cambios en las interacciones hospedador-parásito durante el estrés. Estudios adicionales deben centrarse en la determinación de si la influencia del estrés en un compartimento específico del sistema inmune depende de su costo relativo en comparación con otros compartimentos (por ejemplo, ¿son más energéticamente económicas las respuestas inmunes aumentadas y más costosas las suprimidas?).

Estrés e intensidad parasitaria

La infección con especies de *Eimeria* causa coccidiosis, una enfermedad común de los animales domésticos. Se caracteriza por una enteritis hemorrágica catarral que termina en diarrea, anemia, deshidratación, anorexia, pérdida de peso y finalmente la muerte (Stockdale *et al.* 1981; Nogueira y Fukuta da Cruz 2007; Busato *et al.* 1998). En los carpinchos no se observaron estos síntomas, pero como era de esperar, tanto los individuos con restricción de alimentos como los estresados físicamente tenían significativamente mayores recuentos de ooquistes que los grupos control, lo que podría dar lugar a efectos subclínicos, ya que la gravedad de la enteritis se correlaciona positivamente con la intensidad de la infección (Dauguschies & Najdrowski 2005). Estos resultados están de acuerdo con la noción de un círculo vicioso, ya que los individuos estresados poseían peor condición corporal y también sufrieron infecciones de coccidios más severas, que a su vez conducirían a una condición

más deteriorada (Beldomenico y Begon 2010). Sin embargo, no se observó una disminución significativa asociada con la función inmune.

A pesar de que esperábamos resultados similares en la intensidad de infección de los nematodos gastrointestinales, se observó lo contrario. Para los individuos que eran más livianos al inicio del experimento, los controles tuvieron mucho más altas cargas parasitarias que los individuos físicamente estresados, patrón que fue consistente para todas las especies de parásitos. El mismo patrón se mantuvo en los carpinchos con restricción de alimentos, aunque la diferencia fue sólo significativa para *Trichuris* sp. y *S. chapini*. Se ofrecen dos hipótesis no mutuamente excluyentes para explicar esta observación, y sostenemos que la evidencia obtenida apoya una sobre la otra.

La primera explicación se refiere a las tasas de consumo diferenciales de los recursos alimentarios. A diferencia de los coccidios, que pueden multiplicarse dentro de los hospederos, como todos los microparásitos, la intensidad de la infección por nematodos es estrictamente dependiente de la cantidad de estados inmaduros (huevos) que son ingeridos por el hospedador. Los individuos que fueron alimentados *ad libitum* tendrían una mayor ingesta de huevos de parásitos que los que tenían una tasa menor de consumo (alimentación restringida). Además, la disminución de la nutrición del hospedador puede afectar negativamente a las poblaciones de parásitos a través de una simple reducción de la disponibilidad de recursos (Bundy y Golden 1987). Sin embargo, por hecho de que el patrón de reducción de la carga de helmintos en carpinchos más pequeños fue más fuerte o tan fuerte tanto en carpinchos físicamente estresados como en los de alimentación restringida, los resultados argumentan en contra de esta hipótesis.

La otra explicación sería que una mayor intensidad de los nematodos en los controles podría surgir de una reducción de la resistencia a los parásitos (la capacidad de limitar la carga de parásitos) o el aumento de la tolerancia (la capacidad de limitar el daño causado por una carga dada). Los niveles más bajos de eosinófilos en los individuos del control es una indicación de que tenían menos asignación de recursos a la respuesta inmune contra macroparásitos que los carpinchos estresados, lo que también podría ser su vez una reducción de la resistencia a los parásitos (Martin *et al.* 2008; Råberg, Graham, y Lee 2009). La medida de la tolerancia es la pendiente de la regresión de la aptitud del hospedador y la carga parasitaria (Råberg *et al.* 2009). En un análisis complementario, se observó que las pendientes de la relación entre la condición corporal y la intensidad parasitaria fueron similares en todos los grupos de tratamiento (Tabla 7). Esta falta de diferencias significativas en las pendientes sugiere que la tolerancia no se vio afectada por los tratamientos, pero la diferencia en los recuentos de eosinófilos indica que la resistencia podría haber sido afectada. Por lo tanto, esta menor inversión en respuesta Th2 en los individuos del control es muy probable que sea la causa por la cual sufrieron una mayor intensidad de infección por helmintos. Lo que queda por explicar por qué esto se observó principalmente en los individuos que eran más livianos al inicio del experimento. Esto podría estar relacionado con la experiencia inmunológica (inmunidad adquirida), que sería mayor en los individuos mayores, pero también podría ser atribuido a un efecto diferencial del estrés en los individuos más pequeños y más grandes. Esto último se reflejó en las glándulas suprarrenales, ya que los signos de estrés fueron mayores entre los individuos físicamente restringidos que eran inicialmente más livianos que entre los individuos más pesados. Los individuos pertenecientes al grupo de restricción de alimentos, mostró una tendencia similar, aunque el término de interacción no fue significativo. Además, a pesar de que todos los carpinchos del experimento estaban creciendo, los

animales más jóvenes (es decir, inicialmente más livianos) estaban en una fase más exigente de crecimiento corporal que los individuos mayores (Ojasti 2011), lo que constituye una fuente adicional de estrés.

Estudios adicionales deben explorar la implicación del estrés en la interacción entre las respuestas inmunes a los parásitos intracelulares típicos (por ejemplo, coccidios) mediadas por Th1 frente a parásitos extracelulares (por ejemplo, helmintos) mediadas principalmente por Th2, ya que las citoquinas producidas por las células Th1 pueden suprimir la función inmune Th2 y viceversa (Abbas, Murphy, y Sher 1996; Yazdanbakhsh, Kremsner, y van 2002). La respuesta inmune de los carpinchos podría ser sesgada a Th2, como se explicó anteriormente para las especies de afrontamiento pasivo (Korte *et al.* 2005; Koolhaas 2008), lo que está de acuerdo con nuestros hallazgos; el estrés dio lugar a intensidades más altas de infección de un parásito que provoca una respuesta Th1, mientras que las intensidades de infección de los que están controlados por una respuesta Th2 fueron de hecho más bajas. Sería importante saber cuáles son las consecuencias en la historia de vida de los carpinchos que resultan de estos cambios inducidos por el estrés en la susceptibilidad a los diferentes tipos de parásitos. Nuestros resultados sugieren que durante los períodos de estrés los carpinchos pueden ser más vulnerables (aunque no necesariamente más expuestos) a microparásitos como coccidios que a macroparásitos.

CONCLUSIONES

Aunque a corto y mediano plazo los factores estresantes provocan un aumento en la inmunidad, está ampliamente aceptado que el estrés crónico resulta en una inmunosupresión a través de mecanismos neuroendocrinos que implican el eje HPA y glucocorticoides, con el fin de redirigir los recursos hacia los procesos fisiológicos que son importantes para superar la situación adversa (Sapolsky, Romero, y Munck 2000, Liao y Shollenberger 2004).

Aunque sólo hemos evaluado un conjunto limitado de componentes del complejo sistema inmune de los vertebrados, hemos sido capaces de demostrar que esta inmunosupresión mediada por el estrés crónico no es válida para el conjunto del sistema inmune de los carpinchos. Nuestros resultados sugieren que una parte no específica del sistema inmune es favorecida sobre los componentes específicos durante el estrés, preparando al organismo para hacer frente a su muy diversa comunidad parasitaria con defensas genéricas en lugar de invertir en la inmunidad específica para todas las especies de parásitos y agentes infecciosos oportunistas a los cuales están expuestos. Los animales usan muchas señales ambientales para modificar sus fenotipos para prepararse para los desafíos ambientales recurrentes (Martin 2009). Hemos llamado a la preparación inmunológica observada en este caso 'profilaxis dependiente del estrés'.

También se mostró que la restricción alimenticia y el estrés físico tuvieron influencias opuestas sobre los microparásitos y macroparásitos gastrointestinales. Esto pone de relieve que se debe poner especial atención sobre el tipo y/o la especie del parásito involucrado cuando se trata de interpretar cómo la interacción sinérgica entre la disponibilidad de alimentos, el estrés y los parásitos afectan la aptitud individual y las dinámicas poblacionales.

BIBLIOGRAFÍA

Abbas,A.K., Murphy,K.M., & Sher,A. (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 383, 787-793.

Albuquerque,G.R., Berto,B.P., Catenacci,L.S., Nogueira,S.S.d., Nogueira-Filho,S.L., & Lopes,C.W. (2008) Eimerid coccidia from capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in southern Bahia, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28, 323-328.

Anderson RC (2000) *Nematode parasites of vertebrates: Their development and transmission*, 2nd ed. CAB International, Wallingford, U.K. 650 p.

Anderson RC, Chabaud AG, Willmont S (1974) CHI. *Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates*. Commonwealth Agricultural Bureaux. Farnham Royal, Bucks, UK. 170 pp.

Arouca,M.E., Miranda,L.B., Lopes,R.S., Takahira,R.K., Kohayagawa,A., Ciarlini,P.C., & Oba,E. (2000) Valores hematológicos de capivaras (*Hydrochoerus Hydrochaeris*) criadas em cativeiro no município de Botucatu, SP. *Ciência Rural* 30, 813-817.

Baayen RH (2011) *LanguageR: Data sets and functions with "Analyzing Linguistic Data: A practical introduction to statistics"*. R package version 1.4. Available: <http://CRAN.R-project.org/package=languageR>. Accessed 14 June 2013.

Barus V, Madjumdar G, Mikailov TK (1975) Morphology and taxonomy of *Trichocephalus myocastoris* Enigk 1933. *Folia Parasitologica* 22: 207–213.

Beldomenico,P.M. & Begon,M. (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol.Evol.* 25, 21-27.

Beldomenico,P.M., Telfer,S., Gebert,S., Lukomski,L., Bennett,M., & Begon,M. (2008) The dynamics of health in wild field vole populations: a haematological perspective. *Journal of Animal Ecology* 77, 984-997.

Boero JJ, de Boehringer I (1967) Los parasitos del Carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*) y del quiyá (*Myocastor coypus*). *Rev Fac Cien Vet La Plata* 9: 161-172.

Bolkovic,M.L., Quintana,R.D., Ramadori,D., Elisech,M., & Rabinovich,J. (2006) Proyecto Carpincho. Propuesta para el uso sustentable del carpincho (*Hydrochaeris hydrochaeris*) en la Argentina. Manejo de fauna silvestre en la Argentina. Programas de uso sustentable (eds M.L.Bolkovic & D.Ramadori), pp 105-119. Dirección de Fauna Silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación.

Boulos,M.N., Roudsari,A.V., & Carson,E.R. (2001) Health geomatics: an enabling suite of technologies in health and healthcare. *J.Biomed.Inform.* 34, 195-219.

Brown,M.J.F., Schmid-Hempel,R., & Schmid-Hempel,P. (2003) Strong context-dependent virulence in a host-parasite system: reconciling genetic evidence with theory. *Journal of Animal Ecology* 72, 994-1002.

Bundy DAP, Golden MHN (1987) The impact of host nutrition on gastrointestinal helminth populations. *Parasitol* 95: 623-635

Burns,V. (2004) Stress and antibody response to vaccination: implications of animal studies for human clinical research. *Expert Review of Vaccines* 3, 141-149.

Burthe,S., Telfer,S., Lambin,X., Bennett,M., Carslake,D., Smith,A., & Begon,M. (2006) Cowpox virus infection in natural field vole *Microtus agrestis* populations: delayed density dependence and individual risk. *J.Anim Ecol.* 75, 1416-1425.

Busato,A., Lentze,T., Hofer,D., Burnens,A., Hentrich,B., & Gaillard,C. (1998) A case control study of potential enteric pathogens for calves raised in cow-calf herds. *J.Vet.Med.B* 45, 519-528.

Casali,P. & Schettino,E.W. (1996) Structure and function of natural antibodies. *Curr.Top.Microbiol.Immunol.* 210, 167-179.

Chavez LF (2010) An Entomologist Guide to Demystify Pseudoreplication: Data Analysis of Field Studies with Design Constraints. *J Med Entomol* 47:291-298.

Paterson S, Lello J (2003) Mixed models: getting the best use of parasitological data *Trends Parasitol* 19: 370-375.

Chitty,D. (1952) Mortality among Voles (*Microtus agrestis*) at Lake Vyrnwy, Montgomeryshire in 1936-9. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.Series B, Biological Sciences* 236, 505-552.

Cox,D. & Todd,A. (1962) Survey of gastrointestinal parasitism in Wisconsin dairy cattle. *J.Amer.Vet.Med.Assoc.* 141, 706-709.

Dauguschies,A. & Najdrowski,M. (2005) Eimeriosis in Cattle: Current Understanding. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 52, 417-427.

Diaz-Ungria C, Quentin JC (1976) Morphologie et position systematique de l'oxyure *Protozoophaga obesa* (Diesing, 1851) Travassos, 1923. *Exc Parasitol en Mem del Dr Eduardo Caballero y Caballero.*

Douglas B, Martin M, Ben B (2013) lme4: Linear mixed-effects models using S4 classes. R package version 0.999999-2. Available: <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>. Accessed 14 June 2013.

Fournier DA, Skaug HJ, Ancheta J, Ianelli J, Magnusson A, *et al.*. (2012) AD Model Builder: using automatic differentiation for statistical inference of highly parameterized complex nonlinear models. *Optim Methods Softw* pp. 233-249.

Frank,S.A. & Schmid-Hempel,P. (2008) Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. *Journal of Evolutionary Biology* 21, 396-404.

French,S.S., Johnston,G.I.H., & Moore,M.C. (2007) Immune activity suppresses reproduction in food-limited female tree lizards *Urosaurus ornatus*. *Functional Ecology* 21, 1115-1122.

French,S.S., Moore,M.C., & Demas,G.E. (2009) Ecological immunology: The organism in context. *Integrative and Comparative Biology* 49, 246-253.

Freyre,A., Burgues,C., Seoane,L., Correa,I., Rodriguez Piquinela,W., Ayala,R., Ayala,J.C., & Montañez,O. (1979) Parásitos encontrados en autopsias de carpinchos (*Hydrochaeris hydrochaeris*) en Uruguay. *Anales de la Facultad de Veterinaria, Montevideo* 16, 65-79.

Furuse,M. & Yokota,H. (1984) Protein and energy utilization in germ-free and conventional chicks given diets containing different levels of dietary protein. *British Journal of Nutrition* 51, 255-264.

Gibbons LM 2010. Keys to the nematode parasites of vertebrates. Supplementary Volume. CAB International, Wallingford, U.K., 416 p.

Grenfell,B.T., Wilson,K., Isham,V.S., Boyd,H.E.G., & Dietz,K. (1995) Modelling patterns of parasite aggregation in natural populations: trichostrongylid nematode-ruminant interactions as a case study. *Parasitology* 111, S135-S151.

Gulland,F.M.D. (1995) Impact of infectious diseases on wild animal population: a review. *Ecology of Infectious Diseases in Natural Population* (eds B.T.Grenfell & A.P.Dobson), pp 20-51. Cambridge University Press, Cambridge.

Hangalapura,B.N., Nieuwland,M.G., Vries Reilingh,G., Buyse,J., Van Den Brand,H., Kemp,B., & Parmentier,H.K. (2005) Severe feed restriction enhances innate immunity but suppresses cellular immunity in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Poultry Science* 84, 1520-1529.

Herrera,E. & Macdonald DW (1984) The capybar. *Encyclopaedia of Mammals* (ed MacdonaldDW), pp 696-699. George Allen & Unwin, London.

Hudson,P.J., Dobson,A.P., & Newborn,D. (1998) Prevention of Population Cycles by Parasite Removal. *Science* 282, 2256-2258.

Jubb,K., Kennedy,P., & Palmer,N. (2007) *Pathology of domestic animals*. Saunders Ltd..

Koolhaas,J.M. (2008) Coping style and immunity in animals: Making sense of individual variation. *Brain, Behavior and Immunity* 22, 662-667.

Korte,S.M., Koolhaas,J.M., Wingfield,J.C., & McEwen,B.S. (2005) The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 3-38.

Latimer,K.S., Mahaffey,E.A., & Prasse,K.W. (2003) *Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. Iowa State Press, Ames, IA.

Liao,C.H. & Shollenberger,L.M. (2004) Enumeration, resuscitation, and infectivity of the sublethally injured *Erwinia* cells induced by mild Acid treatment. *Phytopathology* 94, 76-81.

Lochmiller,R.L. & Dabbert,C.B. (1993) Immunocompetence, environmental stress, and the regulation of animal populations. *Trends in Comparative Biochemistry & Physiology* 1, 823-855.

- Lochmiller, R.L. & Deerenberg, C. (2000) Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* 88, 87-98.
- Madella, D.A., Neto, E.J., Felisberto, M.E., & de Souza, C.E. (2006) Valores hematológicos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) Rodentia: Hydrochoeridae) de vida livre na região de Campinas-SP. *Ciência Rural* 36, 1321-1324.
- Martin, L.B. (2009) Stress and immunity in wild vertebrates: Timing is everything. *General and Comparative Endocrinology* 163, 70-76.
- Martin, L.B., Weil, Z.M., & Nelson, R.J. (2008) Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363, 321-339.
- Matson, K., Ricklefs, R., & Klasing, K. (2005) A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Dev. Comp. Immunol.* 29, 275-286.
- Merino, S., Moreno, J., Tomás, G., Martínez, J., Morales, J., Martínez-de la Puente, J., & Osorno, J.L. (2006) Effects of Parental Effort on Blood Stress Protein HSP60 and Immunoglobulins in Female Blue Tits: A Brood Size Manipulation Experiment. *Journal of Animal Ecology* 75, 1147-1153.
- Moravec, F (1982) Proposal of a new systematic arrangement of nematodes of the family Capillaridae. *Folia Parasitol* 29: 119-132.
- Nogueira, M.F. & Fukuta da Cruz, T. (2007) Doenças da Capivara. Embrapa Pantanal, Corumbá, MS.
- Ojasti J (2011) Estudio Biológico del chigüire o capibara. 2 nd Edition. Caracas: Equinoccio, University of Simón Bolívar. 353 p
- Ojasti, J. & Sosa Burgos, L.M. (1985) Density regulation in population of capybara. *Acta Zoologica Fennica* 173, 81-83.
- Oli, M.K. (1999) The Chitty Effect: A Consequence of Dynamic Energy Allocation in a Fluctuating Environment. *Theoretical Population Biology* 56, 293-300.
- Ould, P. & Welch, H.E. (1980) The effect of stress on the parasitism of mallard ducklings by *Echinuria uncinata* (Nematoda: Spirurida). *Canadian Journal of Zoology* 58, 228-234.
- Paterson S, Lello J (2003) Mixed models: getting the best use of parasitological data *Trends Parasitol* 19: 370-375.
- Pedersen, A.B. & Greives, T.J. (2008) The interaction of parasites and resources cause crashes in a wild mouse population. *Journal of Animal Ecology* 77, 370-377.
- Pereira, P., Forni, L., Larsson, E.L., Cooper, M., Heusser, C., & Coutinho, A. (1986) Autonomous activation of B and T cells in antigen-free mice. *European Journal of Immunology* 16, 685-688.
- Quintana, R.D., Bó, R., Merler, J., Minotti, P., & Malvárez, A.I. (1992) Situación y uso de la fauna silvestre en la región del Delta del Río Paraná (Argentina). *Iheringia, Série Zoologia, Porto Alegre* 73, 13-33.

- Råberg,L., Graham,A.L., & Read,A.F. (2009) Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 37-49.
- Rahbek,C. (2007) Disease ecology: the silence of the robins. *Nature* 447, 652-653.
- Ribeiro SMB, Amato SB (2003a) Descrição de estruturas associadas com a bolsa copuladora e cone genital de *Hydrochoerisnema anomalobursata* ARANTES & ARTIGAS, 1980 (TRICHOSTRONGYLOIDEA, VIANAIIDAE). *Arquiv do Instit Biol* 70, 145-147.
- Ribeiro SMB, Amato SB (2003b) Redescrição da bolsa copuladora de *Vianella hydrochoeri* (TRAVASSOS, 1914) TRAVASSOS, 1918 com ênfase no cone genital (TRICHOSTRONGYLOIDEA, VIANAIIDAE). *Arquiv do Instit Biol* 70, 155-157.
- Robles MR (2011) New species of *Trichuris* (Nematoda: Trichuridae) from *Akodon montensis* Thomas, 1913 of the Paranaense forest in Argentina. *J of Parasitol* 97: 319-327.
- Rothenberg,M.V. & Hogan,S.P. (2006) The Eosinophil. *Annual Review of Immunology* 24, 147-174.
- Salas,V. & Herrera,E.A. (2004) Intestinal helminths of capybaras, *Hydrochoerus hydrochaeris*, from Venezuela. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz* 99, 563-566.
- Sapolsky,R.M., Romero,L.M., & Munck,A.U. (2000) How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews* 21, 55-89.
- Scott,M.E. (1988) The Impact of Infection and Disease on Animal Populations: Implications for Conservation Biology. *Conservation Biology* 2, N°1.
- Sinkoc,A.L., Brum,J.G.W., & Muller,G. (2009) Gastrintestinal helminths of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) in Cattle Breeding Farm in the area of the Ecological Reserve of Taim, Rio Grande. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 52, 327-333.
- Snyder,D.L. & Wostmann,B.S. (1987) Growth rate of male germfree Wistar rats fed ad libitum or restricted natural ingredient diet. *Laboratory Animal Science* 37, 320-325.
- Stockdale,P.H., Bainborough,A.R., Bailey,C.B., & Niilo,L. (1981) Some pathophysiological changes associated with infection of *Eimeria zuernii* in calves. *Can J Comp Med.* 45, 34-37.
- Tompkins,D.M. & Begon,M. (1999) Parasites can regulate wildlife populations. *Parasitol.Today* 15, 311-313.
- Townsend,A.K., Clark,A.B., McGowan,K.J., Miller,A.D., & Buckles,E.L. (2010) Condition, innate immunity and disease mortality of inbred crows. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277, 2875-2883.
- Ueno,H. & Gutierrez,V. (1988) Manual para diagnóstico das helmintoses de rumiantes. Tokyo, Japan.

Vicente JJ, Olivera Rodrigues H, Correa Gomes D, Pinto RM (1997) Nematoides do Brasil. Parte V: Nematoides de mamíferos. *Rev Brasil Zool*, 14: 1-452.

Vieira, F.M., Lima, S.S., & Bessa, E.C. (2006) [Morphology and biometry of eggs and larvae of *Strongyloides* sp. Grassi, 1879 (Rhabditoidea: Strongyloididae), a gastrointestinal parasite of *Hydrochaeris hydrochaeris* (Linnaeus, 1766) (Rodentia: Hydrochaeridae), in the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil]. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 15, 7-12.

Vinkler, M., Schnitzer, J., Munclinger, P., & Albrecht, T. (2012) Phytohaemagglutinin skin-swelling test in scarlet rosefinch males: low-quality birds respond more strongly. *Animal Behaviour* 83, 17-23.

Webster, J.I., Tonelli, L., & Sternberg, E.M. (2002) Neuroendocrine regulation of immunity. *Annual Review of Immunology* 20, 125-163.

Weindruch, R. & Walford, R.L. (1998) *The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction*. Thomas Press, Springfield, IL.

Wilson, K.E.N.N. & Reeson, A.F. (1998) Density-dependent prophylaxis: evidence from *Lepidoptera* *Gc* *obaculovirus* interactions? *Ecological Entomology* 23, 100-101.

Wilson, K., Thomas, M.B., Blanford, S., Doggett, M., Simpson, S.J., & Moore, S.L. (2002) Coping with crowds: Density-dependent disease resistance in desert locusts. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 5471-5475.

Yazdanbakhsh, M., Kreamsner, P.G., & van, R.R. (2002) Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* 296, 490-494.

Yu, B.P. (1996) Aging and oxidative stress: Modulation by dietary restriction. *Free Radical Biology and Medicine* 21, 651-668.

Conclusiones Generales

Esta tesis pone de manifiesto la compleja red de interacciones entre las defensas del animal, su comunidad parasitaria y su relación con los factores intrínsecos y extrínsecos que deben ser estudiados para comprender mejor las dinámicas de salud de poblaciones silvestres.

A diferencia de los animales domésticos, es difícil trabajar con animales silvestres porque en general se desconocen cuáles son los parámetros morfológicos y fisiológicos “normales”. Por eso es importante destacar que este estudio nos permitió por un lado conocer más sobre los parámetros inmuno-fisiológicos y morfológicos de los carpinchos silvestres, algunos de ellos reportados por primera vez y por el otro, conocer la comunidad componente de este gran herbívoro en la eco-región “Lagunas y Esteros del Iberá”. Esta información resultará de gran utilidad para el estudio y monitoreo de las dinámicas parasitarias de las poblaciones de carpinchos.

Los grandes humedales fluviales de la región han sido escenario de un incremento notable de la carga ganadera. Esto representa una presión sobre las poblaciones de fauna silvestre. En particular, se ha observado que los carpinchos cambian sus patrones forrajeros cuando comparten su hábitat con especies de herbívoros domésticos (Quintana *et al.* 2002) y estos cambios en dichos patrones podrían a su vez influir sobre su estado sanitario. Además, no sólo ha aumentado la carga ganadera, sino que también grandes extensiones de humedales han sido y siguen siendo, drenados para la agricultura o son reemplazados por cultivos de arroz o forestaciones de pinos. Estas perturbaciones antrópicas son nuevos desafíos para las poblaciones de carpinchos, por lo que podrían producir estrés y limitar los recursos, y de esta manera volver a los carpinchos más vulnerables a su comunidad parasitaria. Por lo tanto estudios realizados en situaciones reales arrojan luz sobre el posible impacto que pueden tener estas interacciones sobre las dinámicas de salud de los carpinchos.

A partir de los resultados obtenidos en esta tesis se pone de manifiesto que se debe prestar especial atención sobre el tipo y/o la especie del parásito involucrado cuando se trata de interpretar cómo la interacción sinérgica entre la disponibilidad de alimentos, el estrés y los parásitos afectan la aptitud individual y las dinámicas poblacionales de los carpinchos.

Estudios en curso

Glucocorticoides fecales

Así como se ha realizado un gran esfuerzo para poner a prueba cuán ajustada resulta la información respecto de la comunidad parasitaria del carpincho obtenida de manera no invasiva utilizando el conteo de los huevos y ooquistes de las heces, también se ha planteado lograr herramientas no invasivas que permitan evaluar el estrés en poblaciones naturales de carpinchos. Un método que se utiliza como indicador de salud que puede ser medido utilizando materia fecal son los niveles de glucocorticoides (Harper & Austad 2000). Una ventaja importante de este método es que las mediciones de glucocorticoides fecales representan un valor acumulativo, por lo que las

fluctuaciones diarias quedan suavizadas. Además, el uso de muestras de heces no requiere la manipulación de los animales, con lo cual se evita su efecto de confusión. Por lo tanto, encontrar altos niveles de glucocorticoides en heces podría indicar que el animal estuvo sometido a situaciones de estrés días previos a la recolección de la feca. Este estudio se ha comenzado a desarrollar durante el transcurso de la realización de esta tesis. Durante el experimento (capítulo 4), una vez por semana se recolectó una muestra de feca de cada uno de los 27 carpinchos y se almacenó a -20°C para luego ser utilizada para la extracción de los glucocorticoides fecales. Si bien no se han obtenido todos los resultados al momento de la entrega de la tesis, ya se ha puesto a punto la técnica de extracción, se han extraído los glucocorticoides de todas las heces y se ha obtenido la cuantificación de la corticosterona en la mayoría de ellas. Resta medir también los niveles de cortisol para luego poder comparar cómo fue el comportamiento de ambas hormonas en los carpinchos sometidos a los dos tipos de estrés crónico.

Por otra parte, además de evaluar de manera experimental estos parámetros (carga parasitaria y glucocorticoides fecales) como herramientas no invasivas para el monitoreo de dinámicas de salud en carpinchos. En el presente están siendo aplicadas también para medir el impacto de una perturbación antrópica creciente a la que están sometidas las poblaciones de carpinchos silvestres de la región: actividad ganadera.

Resulta difícil formular predicciones sobre el efecto neto de la presencia de ganado sobre la dinámica de parasitismo gastrointestinal de los carpinchos. Por un lado, podría disminuir las cargas de determinados parásitos al retirar del ambiente las formas inmaduras infectantes específicas de carpinchos. Por otro lado, podría producir estrés y limitar los recursos, y de esta manera tornar a los carpinchos más vulnerables a su comunidad parasitaria.

En base a los resultados preliminares obtenidos en un estudio piloto se puede sugerir que la presencia de ganado podría ser un factor que afecta las dinámicas de salud de poblaciones de carpinchos, ya que se encontró que los carpinchos en un sitio con ganado poseían conteos fecales de ooquistes de *Eimeria* sp. y huevos de Tricostromyloidea significativamente mayores que un sitio sin ganado (Eberhardt *et al.* 2012). Por lo tanto, el estudio del contenido de formas evolutivas y glucocorticoides fecales en las heces podrían utilizarse para conocer sobre el impacto que tiene la presencia de gran cantidad de bovinos sobre las dinámicas de salud de los carpinchos.

Otro indicador de la inmunocompetencia: citocinas

Resulta muy importante obtener más de un parámetro, tanto para cuantificar estrés, condición física como la respuesta inmune de una especie. Para tal fin se está llevando a cabo la evaluación de citocinas del sistema inmune innato (pro y anti-inflamatorias) mediante técnica de PCR en tiempo real. A partir de muestras de bazo de los carpinchos del experimento se evaluó el efecto del estrés nutricional y psicofísico sobre niveles de expresión de citocinas TNF- α e IL-1 β (pro-inflamatorias) y IL-10 y TGF- β 1 (anti-inflamatorias). Además se está evaluando citoquinas involucradas en la respuesta inmune específica: perfil Th1/Th2 y Th17, de estos mismos individuos.

Estos resultados nos permitirán: i. medir con detalle la inmunocompetencia de los hospederos y la aptitud de diferentes compartimentos de su sistema inmune, ii. Evaluar el trade off entre los distintos compartimentos del sistema inmune de manera tal de dilucidar el entendimiento de la interacción entre las dinámicas de salud del hospedador y las infecciones.