

Universidad Nacional de San Juan.  
Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales.  
Departamento de Biología.  
Licenciatura en Biología



Trabajo Final de Licenciatura en Biología

Evaluación del bienestar y uso del espacio de la  
tortuga terrestre (*Chelonoidis chilensis*) en el  
Faunístico (Centro para la Conservación de Fauna  
Silvestre) de San Juan

Alumno: Lunardi Giménez, Juan Agustín.

Asesor: Dr. Nieva Cocilio, Rodrigo.  
Co-Asesoras: Dra. Adarvez Giovanini, Silvina.  
Dra. Andino, Natalia.

San Juan  
2024

# Índice

<b>Agradecimientos.....</b>	<b>3</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>4</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>6</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>13</b>
<b>Metodología .....</b>	<b>14</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>32</b>
<b>Discusión .....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>56</b>
<b>Sugerencias o recomendaciones .....</b>	<b>58</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>59</b>

## **Agradecimientos**

Para empezar quería agradecerles a mis directores Rodrigo, Silvina y Natalia, por su acompañamiento durante todo este proceso, su consejo, sus aportes, su voluntad, su tiempo y por sobre todo por su predisposición.

También agradecer al Municipio de Rivadavia por permitirme el ingreso al Faunístico y por sobre todo a Iván y Cynthia, veterinarios encargados del Parque, por su predisposición, asistencia y ayuda en todo momento.

A mis ex compañeros de trabajo Marce, Flor, Mónica y Yesica que me ayudaron en los primeros muestreos, como así también a los actuales, Elías, Pame, Romy, Nico y Paula que prestaron su servicio atento cuando necesite ayuda

A mis compañeros de la Facultad, con los que estudiamos desde el principio Juanga, Pollo, Vale y Ceci, y que tantas cosas compartimos durante esta hermosa carrera.

A todos los profes que he tenido en cada materia, que con su vocación y servicio contribuyeron a mi formación.

Al tribunal evaluador por tomarse el tiempo de leer mi trabajo y realizar sugerencias, aportes y comentarios para la finalización correcta de este proyecto.

A mis amigos desde siempre Chino, Flor, Fran, Cande, Mica, Chiki, Richi, Majo y Juanchi que festejaron conmigo cada éxito y me acompañaron cuando ya no quería saber nada más con la carrera y posteriormente con la tesis jaja.

A mis padrinos Andrés y Ruyi, por su cercanía y acompañamiento.

Por último y más importante, a mi familia, los que siempre estuvieron. A mis hermanos José y Dani que a pesar de las peleas y diferencias siempre fueron compañeros fieles, atentos y cariñosos. A mis papás Daniel y María Clara que siempre estuvieron al pie del cañón y me apoyaron en todas mis decisiones, fueron oído atento y consejo sabio desde que nací hasta el día de hoy.

## Resumen

*Chelonoidis chilensis* es una especie de tortuga terrestre particularmente importante debido a que enfrenta diversas amenazas antrópicas, como el comercio ilegal, que la sitúan en una categoría de conservación “Vulnerable” a nivel nacional e internacional. En respuesta a estas problemáticas las instituciones zoológicas y centros de rehabilitación sirven para la recuperación y conservación de fauna silvestre rescatada o decomisada. Estas instituciones cumplen un rol crucial trabajando para satisfacer las complejas necesidades de los animales en cautiverio y aspiran a proveer un mayor estado de bienestar. En función de lo planteado, el objetivo principal de este estudio fue estimar el estado de bienestar de una población en cautiverio de tortugas terrestres (*Chelonoidis chilensis*) en el centro para la conservación de la fauna silvestre “Faunístico” de San Juan por medio de la evaluación del uso del espacio, patrones de comportamiento, y parámetros hematológicos.

El recinto donde se ubican los ejemplares de la especie en estudio (*C. chilensis*), se subdividió diferenciando 6 microhábitats (“Refugio”, “Vegetación”, “Suelo Desnudo”, “Hojarasca”, “Sombra artificial” y “Agua”), donde se registró la temperatura y se los asoció a la frecuencia de tortugas activas. Paralelo a esto se confeccionó un etograma y, utilizando la técnica de observación de barrido, se evaluó la frecuencia de cada comportamiento, su relación con el momento del día y el uso del espacio relacionándolo al microhábitat donde se hallaban. Posteriormente se tomaron muestras sanguíneas de los individuos para evaluar valores hematológicos de referencia (serie roja y serie blanca) y compararlos con otros estudios de esta especie en cautiverio. Además se realizaron frotis sanguíneos para obtener los valores del índice H/L (relación heterófilos/linfocitos), como indicador sanguíneo de estrés.

Se observó un uso diferencial de los microhábitats, siendo “Refugio” el más utilizado debido a su temperatura más estable como también a la protección de otras inclemencias climáticas. El modelo lineal generalizado seleccionado permitió destacar que la interacción entre las variables Temperatura, Microhábitat “Refugio” y Hora tuvo efectos significativos sobre la variable respuesta (uso). Respecto al comportamiento, el más frecuente fue “Descanso”, el cual no presentó diferencias significativas en su frecuencia a lo largo del día, mientras que “Locomoción”, “Alerta”, “Alimentación” y “Reproducción” fueron más

frecuentes durante la mañana, y finalmente el comportamiento “Agonista” fue más frecuente durante el mediodía. Estos resultados reflejaron un patrón unimodal tal como fue descrito en otro trabajo para esta especie. Se observó también una asociación entre la presencia de visitantes cercanos al recinto y los comportamientos locomoción y alimentación, lo que se puede explicar por efectos del cautiverio como son los comportamientos acomplejados, no obstante, la mayor diversidad de comportamientos estuvo asociada a la presencia de visitantes. El análisis hematológico permitió comparar y comprobar los valores hematológicos de referencia de esta especie mostrando un buen nivel de bienestar incluyendo además un primer valor del índice H/L (Heterófilos/Linfocitos), el cual fue menor a los obtenidos en otras especies de tortugas sometidos a situaciones de estrés, por lo cual, nuestro valor podría ser utilizado como referencia en otros estudios relacionados al bienestar en cautiverio.

Este estudio permitió una mayor comprensión de la bioecología de la especie en cautiverio y podrá ser utilizado como herramienta útil para la aplicación en proyectos de conservación y planes de manejo de hábitat ex situ.

**Palabras clave:** *Chelonoidis chilensis*, bienestar, etología, uso de hábitat, hematología.

## Introducción

La pérdida de diversidad biológica es uno de los grandes problemas que actualmente enfrenta el ser humano, siendo también el principal responsable de ésta. Actualmente más de 42.100 especies se encuentran en peligro de extinción, entre ellas podemos destacar un 27% de las especies de mamíferos, un 41% de las especies de anfibios y un 21% de las especies de reptiles (UICN, 2022).

La extracción ilegal de recursos de vida silvestre es uno de los problemas que afecta la biodiversidad a nivel global, provocando la disminución o, en algunos casos, la extinción de poblaciones silvestres (Eliason, 1999; Bennett y Robinson, 2000; Gavin y col., 2010). Asociado a la extracción de individuos de su hábitat se encuentra generalmente el tráfico ilegal, siendo uno de los comercios que genera mayores réditos económicos en el mundo (Liddick, 2011; Dalberg, 2012; Van Uhm, 2016). Se entiende como tráfico ilegal a la actividad que una persona realiza cuando: “[...] a sabiendas transportare, almacenare, comprare, vendiere, industrializare o de cualquier modo pusiere en el comercio piezas, productos o subproductos provenientes de la caza furtiva o de la depredación” (Ley Nacional 22.421). A nivel mundial, unas 622 especies de animales y plantas se enfrentan a la extinción como resultado de este comercio (Bernal, 2013). En Argentina la extracción ilegal de fauna silvestre es utilizada para consumo y mascotismo, afectando principalmente a especies de vertebrados. Más de 100 especies de aves, 20 de reptiles y 15 de mamíferos en nuestro país son afectados por el tráfico de fauna, encontrándose al menos 20 dentro de la categoría de amenaza (Subsecretaría de Ambiente, 2021). Según datos estimativos del CRET (Centro de Reproducción de Especies de Temaikén), la fauna que allí ingresa es en un 86% aves en peligro de extinción (de ellas, un 5% son guacamayos, tucanes, loros habladores y cotorras); 10% reptiles (boas, tortugas terrestres y yacarés) y un 2% de mamíferos. En nuestra provincia existe escasa información sobre el tráfico de especies, destacando principalmente el trabajo de Becerra y col. (2021) donde se reporta que, al igual que a nivel nacional, los porcentajes más grandes de especies recuperadas en decomisos corresponden a aves (72%) y mamíferos (26%), encontrándose por último los reptiles (2%). En este grupo, un caso particular es la tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis*), el reptil autóctono más comercializado en el mercado ilegal de animales de Argentina (Zuliani, 2014), tratándose de una de las especies no domésticas más

comúnmente utilizada como mascota no convencional. Según la Lista Roja de la Asociación Herpetológica Argentina, esta especie se encuentra en estado vulnerable (Prado y col., 2012). Sin embargo, esto puede deberse a la falta de investigación sobre este grupo durante la última década (Prado y col., 2012). Para la provincia de San Juan, su estado de conservación también es Vulnerable (Acosta y col., 2016, Acosta y col., 2017) consistente a lo expuesto por Prado y col. (2012).

En respuesta a las problemáticas mencionadas es que surgen las instituciones zoológicas y centros de rehabilitación, como herramientas para la recuperación y conservación de fauna silvestre. Así como el mundo ha cambiado, los zoológicos han debido adecuarse a esos cambios y pasar de ser centros meramente recreativos a ser centros de conservación de especies amenazadas (Leizagoyen, 2005). Según Valdés (2013) la conservación ex situ es un componente necesario de toda política de conservación de la diversidad biológica, especialmente cuando las presiones sobre el medio natural son muy elevadas y no es posible garantizar la conservación en sus hábitats naturales. Cabe destacar que el Convenio de la Diversidad Biológica realizado en Rio de Janeiro en 1992, al cual adhiere la Argentina por medio de la ley 24.375 y otros 167 países firmantes, destaca la importancia de la conservación ex situ e implementa medidas y reglamentaciones para su desarrollo.

En la provincia de San Juan el Centro para la Conservación de Fauna Silvestre “Faunístico” es una institución que tiene como finalidad recibir, rehabilitar y custodiar a todos aquellos animales que han sido víctimas del tráfico ilegal, mascotismo y/o han sufrido accidentes a causa del desarrollo urbano. Los motivos de ingreso de los animales se deben, en su mayoría, a decomisos realizados por la Secretaría de Estado de Ambiente y Desarrollo Sustentable (SEAyDS), Gendarmería, Policía, Bomberos e inclusive rescates y/o donaciones por particulares que los adquieren como mascotas no tradicionales. El Faunístico es el principal Centro de rehabilitación que existe en la provincia de San Juan y recibe continuamente ejemplares de diferentes especies silvestres de nuestra región.

En función a las problemáticas y el contexto local anteriormente mencionado, las instituciones zoológicas actualmente cumplen un rol crucial trabajando para satisfacer las complejas necesidades de los animales en cautiverio y aspiran, tanto como se pueda, a que las especies bajo su cuidado expresen la mayor variedad de comportamientos naturales, permitiéndoles

así un mayor bienestar (Barongi y col., 2015). El bienestar de un individuo puede definirse como su estado con relación a sus intentos por afrontar su ambiente (Broom, 1986). Esta es una ciencia multidimensional, ya que busca evaluar el estado de los animales en su intento por adaptarse a su entorno, entendiendo cómo responden a presiones generadas por procesos naturales o antropogénicos (Pérez-Rojas, 2019), a partir de la cuantificación y análisis de tres elementos que incluyen variables físicas, fisiológicas y etológicas (Broom, 1986). Estos elementos son: el funcionamiento adecuado del organismo (lo que, entre otras cosas, supone que los animales estén sanos y bien alimentados), el estado emocional del animal (incluyendo la ausencia de emociones negativas tales como el dolor y el miedo crónico) y la posibilidad de expresar algunas conductas normales propias de la especie (Broom, 1986; Fraser y col., 1997). Por ende, el bienestar no es una variable que se pueda medir o cuantificar, sino que se debe determinar teniendo en cuenta distintos aspectos y problemas relacionados con él, llamados “indicadores” de bajo o alto bienestar animal (Recuerda Serrano, 2003).

Uno de los principales indicadores de bienestar animal es el comportamiento, debido a que indica lo que realizan los animales para cambiar y controlar su medio, proporcionando información relevante sobre preferencias, necesidades y estado interno (Recuerda Serrano, 2003). En animales en situación de cautiverio el estudio de los comportamientos que exhiben en sus recintos es de gran importancia (Warwick, 1990a, 1990b; Case y col., 2005), ya que pueden demostrar reacciones que denoten una inadecuada adaptación a las condiciones del recinto o estrés. El estrés puede definirse como la respuesta generalizada e inespecífica de un organismo a cualquier factor que exceda (o amenace con exceder) su capacidad para mantener la homeostasis (Arnemo y Caulkett, 2007). Los estudios comportamentales son uno de los métodos de aproximación del estado de los animales en zoológicos (Buteler, 2017), ya que es posible visualizar cómo las condiciones de cautividad afectan a los animales contrastando su comportamiento con el de animales silvestres (Pintos, 2017; Villalobos Perna, 2021). Presentan a su vez la ventaja de ser útiles, económicos y no intrusivos, permitiendo entonces obtener datos sin la necesidad de realizar tareas de campo evitando así la posible peligrosidad o dificultad de llevar a cabo estos estudios en la naturaleza (Passos y col., 2014). Históricamente, la investigación sobre el comportamiento natural de los reptiles ha sido de baja prioridad, probablemente debido a la dificultad de observación en la naturaleza, así como

la percepción errónea de que los reptiles son altamente adaptables al cautiverio. Esto viene acompañado, además, de un “sesgo taxonómico” cuando se trata de estudios comportamentales sobre animales en cautiverio siendo los reptiles los menos estudiados de los diversos grupos existentes (Carter y col. ,2021; Hamilton, 2022).

Otro aspecto relevante a tener en cuenta en poblaciones en cautiverio es el uso del espacio, ya que permite asociar a los individuos con el ecosistema, entender su relación, los recursos que se utilizan y evaluar el grado de adecuación de los animales al ambiente (Quintana y col., 2014; Buteler, 2017). Por definición, el hábitat es el conjunto de características de un área en la cual interactúan recursos y factores ambientales, que generan condiciones que la hacen susceptible de ser ocupada por un organismo (Hall y col., 1997; Krausman, 1999). Implica, más que simplemente la estructura del sustrato o la vegetación, el total de recursos específicos que necesita un organismo para su supervivencia y reproducción (Krausman, 1999; Zorro Ceron, 2007). En relación a esto, los microhábitats pueden definirse como el sitio exacto donde los individuos desarrollan alguna función metabólica y está determinado por el área de acción de un individuo y la manera como utiliza los recursos que allí dispone (Hall y col., 1997). Por otro lado, se puede definir al uso del hábitat como la cantidad de dicho recurso (Hábitat, refugio, etc.) utilizado por un animal o población en un periodo de tiempo y espacio determinado, lo cual a su vez indica una asociación con dicho recurso (Manly y col. 2002) y es identificado de forma única durante un período de tiempo de estudio fijado (Thomas y Taylor, 2006). El conocimiento del uso del espacio por las especies es importante, ya que en éste están disponibles los recursos potencialmente utilizables por los organismos (Begon y col., 1997). La distribución de los recursos tróficos y la disponibilidad de lugares de reproducción a menudo limitan los patrones de movimiento del individuo (Santos, 2018). Además, para los animales ectotermos, como los quelonios terrestres, resulta imprescindible la presencia de sitios de termorregulación y refugios que les permitan estar activos cuando les sea necesario (Santos, 2018). Esto adquiere una importancia aún mayor en condiciones de cautiverio, donde estos sitios deben ser provistos en el recinto, ya que de otra manera los animales no pueden modificar sus condiciones ni trasladarse a otras áreas en busca de dichas condiciones (Buteler, 2017).

Otra herramienta que permite evaluar el estado de bienestar animal es el análisis de parámetros hematológicos. La hematología es el método más recomendado para obtener excelentes indicadores del estado de salud de un individuo (Owens y Ruiz, 1980; Lowell, 1998) como también su nivel de estrés. En animales en cautiverio resulta sustancial estudiar indicadores fisiológicos, ya que permiten contar con una rápida herramienta diagnóstica que ofrece mucha información referida al estado de salud de los organismos (Troiano y Silva, 1998). En los quelonios, los parámetros hematológicos son un aliado valioso e imprescindible en la evaluación del estado sanitario, ya que estas especies apenas presentan signos clínicos aparentes de enfermedad y son difíciles de explorar debido a la presencia del caparazón. Además, las tortugas son animales altamente sensibles a los cambios climáticos y de hábitat (Figueres, 2015). Para *Chelonoidis chilensis* específicamente, la información relacionada a parámetros hematológicos es casi nula (Troiano y Silva, 1998), a pesar de que existe una metodología analítica aplicada a mamíferos y aves (Davis, 2005; Abdel-Rachied y col., 2014; Royer y Anderson, 2014; Seltmann y col., 2017), las cuales han sido exhaustivamente estudiadas y que han sido aplicadas en otras especies de tortugas (Cabrera y col., 2011; Andreani y col., 2014; Figueres, 2015; Goessling, y col., 2016) .

En vertebrados, se han descrito diversos métodos para evaluar el estrés fisiológico, uno de ellos es la medición de los niveles de hormonas glucocorticoides suprarrenales. Aunque este método ha resultado ser una herramienta invaluable, presenta ciertas limitaciones que afectan su eficacia. Por ejemplo, los niveles de corticosterona en plasma aumentan rápida e inmediatamente después de la captura de animales salvajes (Romero y Reed, 2005), lo que dificulta la obtención de mediciones de referencia en situaciones de campo. Además, la medición de estas hormonas por medio de análisis de fecas, también presenta sus limitaciones debido a que sus concentraciones comienzan a modificarse después de su deposición (Cappa y col., 2016). En respuesta a estas limitaciones se han aplicado métodos complementarios para la evaluación del estrés fisiológico a través de parámetros sanguíneos como es el conteo diferencial de los componentes del perfil leucocitario a partir de frotis sanguíneos (Davis, 2008; Martínez Quintanilla y col., 2016). Según lo expuesto en Davis (2008) el estrés produce efectos sobre algunos parámetros hematológicos como el perfil leucocitario, permitiendo conocer, a través de sus valores y proporciones, el estado de bienestar de los individuos. Las

reducciones inducidas por el estrés en el número de linfocitos circulantes se deben a las alteraciones inducidas por los glucocorticoides en el "tráfico" o la redistribución de los linfocitos de la sangre a otros compartimentos corporales. A diferencia de la respuesta hormonal al estrés, la respuesta inicial de los leucocitos comienza en un lapso de horas a días, según el taxón (Davis, 2008), por lo cual permite descartar el estrés causado por la manipulación, enfocándose así en el estrés causado por las condiciones ambientales del recinto (Davis, 2008). Además de dar más tiempo a los investigadores para obtener muestras de referencia, el uso de perfiles de leucocitos para evaluar el estrés en vertebrados ofrece ventajas adicionales. En primer lugar, la técnica es relativamente económica y solo requiere portaobjetos de microscopio, tinción y un microscopio. En segundo lugar, la muestra de sangre requerida para un frotis de sangre es muy pequeña. Es por esto que actualmente ha adquirido un mayor peso en los estudios relacionados con el estrés fisiológico en diversos grupos (Davis, 2008).

Las instituciones zoológicas además de abordar la conservación ex situ y la rehabilitación de fauna silvestre, juegan un importante rol en la educación ambiental (Baschetto, 2000). En función de esto es que este tipo de instituciones reciben tanto a particulares como instituciones educativas y recreativas, lo que implica un gran número de visitantes, factor que puede producir modificaciones en el bienestar. Los visitantes pueden presentar estímulos visuales, auditivos y olfativos potencialmente abrumadores que pueden desconcertar a los animales del zoológico con habilidades sensoriales adaptadas a entornos salvajes (Hamilton, 2022). El impacto potencial de los visitantes del zoológico ha llevado a aumentar la investigación para evaluar su efecto sobre los animales en cautiverio, sin embargo, los estudios sobre esta temática se han centrado principalmente en los mamíferos, e incluso más específicamente en los primates y carnívoros, lo que dificulta las inferencias sobre el impacto en otros taxones, especialmente reptiles (Hamilton, 2022).

En tortugas, se han estudiado variables fisiológicas (Troiano y Silva, 1998), genéticas (Fritz y col., 2012; Sánchez, 2012) y ecológicas (Varela y Bucher, 2002), no obstante, la caracterización comportamental de individuos en cautiverio es escasa (Richard, 1999; Buteler, 2017). La información obtenida a partir de estos estudios no solo permitiría una mayor comprensión de la ecología de la especie en cautiverio, sino también podría ser una herramienta útil para la

aplicación en proyectos de conservación y planes de manejo de hábitat ex situ (Liu y col., 2019).

En base a lo mencionado anteriormente, la realización de este trabajo resulta de gran importancia para conocer, las condiciones en las que se encuentra una población de tortugas terrestres en cautiverio en el Centro para la Conservación de la Fauna Silvestre “Faunístico”, debido a la importancia y vulnerabilidad de *Chelonoidis chilensis*; mediante el aporte de conocimiento sobre sus patrones comportamentales y de uso de hábitat, como también sobre sus parámetros hematológicos y la influencia de los visitantes sobre los animales en cautiverio, contribuyendo así a los estudios de investigación en otros reptiles quelonios.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

-Evaluar uso del espacio, patrones de comportamiento, y parámetros hematológicos de una población en cautiverio de tortugas terrestres (*Chelonoidis chilensis*) en el Faunístico de San Juan, con el propósito de estimar su estado de bienestar y realizar recomendaciones de manejo de ser necesario.

### **Objetivos específicos**

-Caracterizar la población actual de *Chelonoidis chilensis* en el Centro Faunístico, en términos de proporciones de sexos y edades, considerando también variables morfológicas tales como longitud del plastrón, ancho del plastrón y peso.

-Examinar y describir el uso del espacio por la especie dentro del recinto donde se encuentran los ejemplares, mediante frecuencias de uso de distintos microhábitats establecidos.

-Analizar pautas comportamentales exhibidas por los individuos a través de la observación y cotejo con un etograma de comportamientos preestablecidos, como así también el patrón de actividad diario.

-Investigar la influencia de la presencia/ausencia de turistas en el Faunístico sobre el comportamiento de las tortugas, buscando asociaciones entre estos factores.

-Medir y evaluar parámetros hematológicos de la especie a fin de contribuir con la estimación del estado sanitario y nivel de estrés de la población.

## Metodología

### Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Conservación de Fauna Silvestre “Faunístico”, ubicado en el departamento Rivadavia, San Juan, Argentina. El Faunístico se encuentra a unos 12 km de la Capital y se puede acceder al mismo por la Ruta Provincial N°60, km 14. Al momento del estudio, en el Faunístico, la población constaba de 44 tortugas las cuales han sido decomisadas en operativos de fauna y/o provenientes de donaciones voluntarias de particulares, que las encontraron en la vía pública o las tenían como mascotas en sus domicilios. El recinto (Figuras 1, 2 y 3), donde se encuentran los ejemplares, posee una superficie aproximada de 160 m<sup>2</sup>. El recinto cuenta con diversos tipos de sustratos (arena, tierra, hojarasca, hormigón, etc.) en su interior y presenta diversas especies de árboles (*Schinus areira*, *Neltuma flexuosa*, etc.) y arbustos nativos como *Larrea cuneifolia* y *Senna aphylla* (Figura 3), con diferentes condiciones de luminosidad y temperatura. También, presenta diversos refugios tanto naturales, (por ejemplo refugios bajo la vegetación, cuevas) como así también refugios artificiales (por ejemplo construidos con pallets de madera, construidos con hormigón, etc.) que confieren protección a las tortugas (Figura 2). Además, hay un bebedero central que sirve como fuente de agua para los ejemplares de la especie presentes en el área.



Figura 1: Recinto de *Chelonoidis chilensis* visto desde la puerta de ingreso.  
(Foto: Juan Lunardi).



Figura 2: Refugios artificiales y bebedero del recinto de *Chelonoidis chilensis*.  
(Foto: Juan Lunardi).



Figura 3: Sector final del recinto de *Chelonoidis chilensis* en el Faunístico con predominancia de sombra. (Foto: Juan Lunardi).

#### Descripción de la especie

La tortuga terrestre *Chelonoidis chilensis*, es una especie de la familia Testudinidae perteneciente a un grupo de tortugas llamado Cryptodira, que son las tortugas que esconden su cabeza dentro del caparazón y entre sus miembros delanteros, de manera que queda cubierta (y defendida) (Stazzonelli, 2020) . El género *Chelonoidis*, es un género de tortugas sudamericanas que comprende diecisiete especies entre las que se encuentra nuestra especie en estudio. Sistemáticamente *Chelonoidis chilensis* ha presentado diferentes variaciones en cuanto a su clasificación (Stazzonelli, 2020). Hasta 1973 era la única especie de tortuga terrestre conocida para las regiones áridas de Argentina (Sánchez, 2012). Freiberg (1973) utilizó una serie de rasgos de forma, coloración del caparazón y distribución para describir dos especies más: *Chelonoidis donosobarrosi* y *C. petersi*. Esta clasificación ha sido tanto validada como criticada por diversos autores. Sin embargo, estudios genéticos recientes realizados por Fritz y col. 2012, determinaron que *Chelonoidis chilensis* es la única especie válida de estas tres, siendo *C. donosobarrosi* y *C. petersi* sinónimos de ella. *Chelonoidis chilensis* habita en Paraguay, Bolivia y principalmente Argentina (Ceï, 1993; Cabrera, 1998). En Argentina se distribuye en las provincias de Buenos



Figura 4: Mapa de distribución de *Chelonoidis chilensis* en la República Argentina.

Aires, Catamarca, Chaco, Córdoba, Chubut, Formosa, Jujuy, La Pampa, La Rioja, Mendoza, Neuquén, Río Negro, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán (Prado y col., 2012; Figura 4). Se encuentra en las ecorregiones del Monte, Chaqueña y Espinal, siendo los 1000 m.s.n.m el límite altitudinal en la mayor parte de su área de distribución (Chebez, 2008). La distribución de la especie está determinada principalmente por la temperatura media anual, el rango térmico y la temperatura máxima del mes más cálido, como así también por las precipitaciones de verano (Ruete y Leynaud, 2015). Es la única tortuga nativa que habita en la provincia de San Juan (Zuliani, 2014).

Morfológicamente *C. chilensis* es una tortuga pequeña. Su peso medio es de 2kg, pero puede superar incluso los 3kg. Presenta un caparazón abovedado siendo la zona media más alta. Este está compuesto por placas óseas y recubierto con placas córneas de queratina levemente calcificadas (Figura 5).

Sobre la región de la columna presenta cinco placas vertebrales alineadas, cuatro placas grandes a los lados denominadas pleurales y once placas más pequeñas en el borde, llamadas marginales o periféricas. Las más laterales son las que unen con las placas que conforman el plastrón. Entre diferentes ejemplares podemos encontrar una gran variación en el color de las placas, desde pardo amarillento en el centro con bordes marrón oscuro o casi negro, a centro oscuro y bordes claros. Incluso puede haber placas pardo grisáceas, y en algunos casos toda la placa presenta el mismo color (González, 2009).

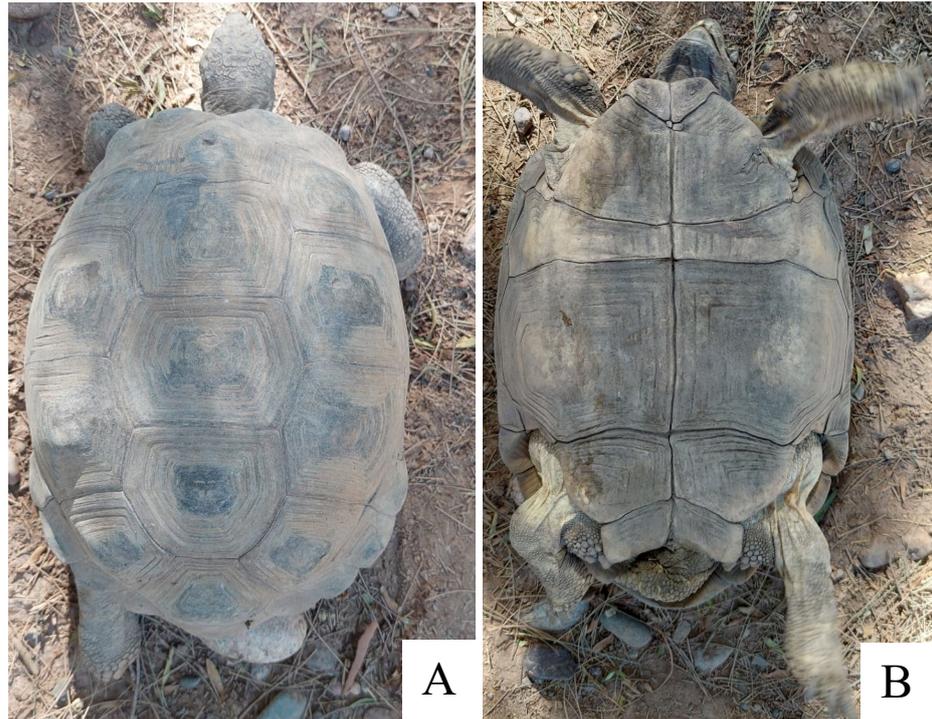


Figura 5: Vista por dorsal (A) y abdominal (B) de un ejemplar de *Chelonoidis chilensis* perteneciente a la población en estudio (Centro de Conservación de Fauna Silvestre “Faunístico”).

(Foto: Juan Lunardi).

Presenta un marcado dimorfismo sexual principalmente denotado por una concavidad en las placas del plastrón en los machos a diferencia de las hembras que presentan plastrón plano, como así también diferencias en tamaño entre ambos sexos, siendo las hembras más grandes que los machos (Zacarías y col., 2016). En los machos el largo del caparazón puede llegar a 28 cm, mientras que en las hembras puede superar los 32 cm (Cabrera, 1998; Richard, 1999).

Relacionado a sus características de termorregulación, es una especie ectotérmica, es decir, que depende de las temperaturas del ambiente para poder termorregular y así realizar sus diferentes actividades. La especie se encuentra en actividad sólo durante primavera-verano (denominado como periodo trófico), el cual abarca desde septiembre hasta marzo, pudiendo variar los períodos de actividad a causa de eventos climáticos estacionales (Richard, 1994). Es una especie de actividad diurna, evita las horas cálidas cavando refugios no muy profundos en el terreno (Kenneth y col., 2007) o utilizan madrigueras abandonadas por otros animales, para poder disminuir su temperatura corporal, refugiarse por la noche, hibernar y depositar sus puestas (Kenneth y col., 2007). Además, al igual que muchos reptiles, es una especie que en

invierno entra en estado de brumación, bajando su metabolismo permaneciendo inactiva mientras las temperaturas permanecen bajas (Ultsch, 1989). Bajo estas condiciones, suelen refugiarse en madrigueras o en cuevas naturales en las rocas u otros sitios que le proporcionen protección de las bajas temperaturas (Kenneth y col., 2007).

Estos testudines son animales herbívoros estrictos, pero oportunistas en relación a la disponibilidad de recursos (Richard, 1994). Su dieta está conformada principalmente por frutos de algunas especies de la familia fabaceae (tales como *Prosopis alpataco*, *Prosopis flexuosa*, *Geoffroea decorticans*, etc.), frutos flores y tallos de algunas especies de cactáceas (*Opuntia sulphurea*, *Cereus aethiops*, entre otras), como así también por especies de la familia Portulacaceae (*Portulaca grandiflora* y otras *Portulaca spp.*) y otras múltiples especies de plantas (Richard, 1994). Además, se han encontrado por medio de estudios de dieta restos de artrópodos, arañas e incluso arena y rocas que son ingeridos de manera accidental (Richard, 1999). Se ha reportado también la ingesta de huesos para suplir necesidades fisiológicas de la especie (Richard, 1994).

Se reproduce en el periodo de noviembre-marzo, por medio de largos e insistentes cortejos. Un mes posterior a esto la hembra ovipone de 1 a 6 huevos (siendo más frecuente la oviposición de solo 3 huevos) en huecos cavados en el sustrato mediante la utilización de sus patas traseras y orina. Las crías nacen de 12 a 14 meses más tarde según las condiciones ambientales (Zuliani, 2014).

Uno de los problemas más importantes a los que se enfrenta esta especie es la captura ilegal y no regulada destinada a la comercialización para el mascotismo o con fines gastronómicos, ya sea nacional o internacionalmente, lo que hace que sus poblaciones se vean en reducción constante (Richard, 1999). Debido a las amenazas persistentes y la continua transformación de su hábitat, las poblaciones de *C. chilensis* están incluidas en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora (CITES), y se consideran vulnerables por las Comisiones de Conservación de la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, Red List 2012) y la Categorización del Estado de Conservación de la Herpetofauna de la República Argentina (Prado y col. 2012). Además, cabe destacar que, en la última categorización de esta especie para la provincia, se la consideró como vulnerable (Acosta y col., 2016).

### **Manejo de la especie en cautiverio**

En el Centro de Conservación de la Fauna Silvestre “Faunístico” la alimentación de la población de tortugas terrestres se realiza con una frecuencia de día por medio, siendo lunes, miércoles, viernes y sábado, los días destinados a la alimentación. Esta es realizada por el personal del Centro entre las 10 y 11:30 h. Previo a la alimentación se realiza una limpieza del recinto para eliminar los restos de comida de la anterior entrega. Una vez al mes se realiza la limpieza integral del recinto para disminuir así la cantidad de materia vegetal acumulada, proveniente de los árboles que lo rodean.

La dieta suministrada consiste principalmente en: zanahoria, zapallo, zapallito tierno, lechuga, zucchini, manzana y espinaca. Además, se le realiza enriquecimiento alimentario 1 vez por semana con: *Opuntia ficus*, *Cereus aethiops*, *Opuntia sulphurea* y pepino (ocasional). El alimento se distribuye de manera aleatoria en distintos puntos a lo largo del recinto, permitiendo así que todos los individuos puedan acceder a los alimentos que prefieren de los ofrecidos. No se realiza ningún tipo de enriquecimiento en sentido de aumentar la dificultad de la obtención del alimento, sino que, al momento de suministrarse, los individuos tienen facilidad del acceso al alimento.

En cuanto al manejo sanitario de la población, todos los individuos que ingresan al faunístico pasan por un periodo de cuarentena donde primeramente se realiza una inspección visual para conocer su estado sanitario inicial y establecer el procedimiento a seguir. Asimismo, el equipo técnico (veterinarios, biólogos y/o técnicos en biología) registra datos del individuo como: dimensiones morfométricas, sexo, y posteriormente se realiza el marcado de los individuos siguiendo un código preestablecido. Luego de esto, se procede a un periodo de aislamiento o cuarentena, que dura como mínimo 30 días, permitiendo prevenir el contagio de alguna enfermedad preexistente al resto de individuos de la población (observación personal).

### **Toma de datos**

La toma de datos para realizar la caracterización de la población como así también el muestreo comportamental, de uso del espacio y la evaluación del efecto de los visitantes fue realizado en simultaneo entre los meses de enero y marzo correspondientes al año 2022.

### **Caracterización de la población**

Para caracterizar la población de tortugas terrestres, se registró en las instalaciones del Faunístico el número total de ejemplares, 30 días previos a dar comienzo al estudio y con el acompañamiento de personal autorizado. Cada ejemplar se identificó mediante el código establecido por el personal de la institución y se midieron las variables: sexo, peso, largo del plastrón (LT) y ancho del plastrón (AT). Para la determinación del sexo se evaluó la concavidad del plastrón según Douglass y Layne (1978). Además, para discriminar los individuos por edades se consideraron las siguientes categorías: adulto, sub adulto o juvenil e infante diferenciadas por medio del conteo de anillos de crecimiento (Bertolero y col., 2005) donde un conteo superior a 12 represento ya la madurez sexual de los individuos. Esto fue contrastado también con los datos obtenidos de las planillas de ingreso y recepción de los individuos que se encuentran en el Centro para la Conservación de la Fauna Silvestre “Faunístico” .

### **Uso del espacio**

Para evaluar el uso del espacio, se realizó una caracterización del recinto, según su estructura, tamaño, recursos y condiciones tales como: microhábitats con vegetación y refugios, con sombra o incidencia solar, etc. El ambiente en el que habita la población de tortugas terrestres se zonificó siguiendo el criterio de Buteler (2017) con modificaciones, para establecer categorías de microhábitats. A partir de esto se diferenciaron 6 microhábitats:

- Vegetación: sitios con sombra o semisombra producida por vegetación herbácea o arbustiva.
- Suelo desnudo: sitios con arena, barro o grava con ausencia de vegetación.
- Agua: bebedero de baja profundidad (> 0.10 m) con presencia de agua estancada.
- Hojarasca: sitios con sustrato compuesto por material vegetal acumulado de los árboles presentes dentro y fuera del recinto.
- Sombra artificial: sitios con sombra o semisombra producida por estructuras dispuestas de manera artificial tales como, troncos apilados, ramas, etc.
- Refugio: estructuras artificiales de baja altura con techo completo o parcial, fabricadas de madera.

En cada registro se evaluó la frecuencia de uso de cada microhábitat por parte de los ejemplares y se midió la temperatura ambiente y del sustrato en diferentes momentos del día, utilizando data loggers de temperatura (HOBO Pro v2), con el fin de relacionar esta variable al uso del espacio.

### **Evaluación comportamental**

Para estudiar el comportamiento de los individuos se realizaron observaciones preliminares ad libitum (Altmann, 1974) durante 7 días, entre las 8:00 h y las 19:00 h, para el registro de los distintos comportamientos y así confeccionar un etograma, utilizando como referencia los comportamientos descritos por Butteler (2017). El muestreo preliminar sirvió de guía para conocer el rango horario real en el cual los individuos se encontraban en actividad el cual se estableció entre las 9 h y las 17 h. Esto permitió luego, durante 15 días consecutivos, realizar la toma de datos definitivos mediante la técnica de barrido (Altmann, 1974). Durante el periodo de muestreo, se visitó el recinto, en intervalos de una hora (dentro del rango horario establecido anteriormente) y desplazándonos de izquierda a derecha, desde la parte más distal del recinto hacia la más próxima a la puerta de ingreso, se registró el número de tortugas que se hallaban realizando cada comportamiento y la zona del recinto en la cual se encontraban, considerando los microhábitats previamente detallados y evitando contar más de una vez el mismo individuo. Todas las observaciones se realizaron desde afuera del recinto para evitar perturbaciones o cambios comportamentales de los ejemplares en estudio.

En base al premuestreo realizado, se realizaron modificaciones al etograma confeccionado por Butteler (2017), permitiendo así diferenciar 17 comportamientos, agrupados en 6 categorías: alerta, descanso, agonismo, alimentación, locomoción y reproducción (Figura 6). Cabe destacar que a su vez estas categorías se agruparon en activos (alerta, agonismo, alimentación, locomoción y reproducción) e inactivos (descanso).

**DESCANSO** (Se agruparon los comportamientos “reposo” y “durmiendo” en la categoría descanso debido a que, dada la configuración del refugio, se dificultaba la diferenciación entre ambos).

- Descanso: individuo inmóvil, extremidades y cuello parcialmente estirados, plastrón apoyado en el suelo con las extremidades relajadas o dentro del caparazón, ojos abiertos, cabeza retraída dentro del caparazón.

### **REPRODUCCIÓN** (Figura. 6B)

- Solicitar: el macho realiza movimientos rodeando a la hembra, se coloca por delante y por el costado alternando con momentos en que permanece inmóvil. A veces pueden ocurrir mordiscos en el caparazón o en las patas.
- Monta: el macho apoya su plastrón sobre el caparazón de una hembra, parándose sobre sus extremidades posteriores y usando las anteriores para agarrarse del caparazón de su compañera.
- Evasión: la hembra gira sobre su eje tratando de evitar el comportamiento de copulación del macho u obligando al macho a desmontarse.
- Cópula: macho realiza movimientos copulatorios acompañados de un sonido característico, con el cuello estirado y manteniendo la cabeza horizontal. Cloacas juntas.
- Cavar: movimiento alternado de las extremidades posteriores quitando tierra del sustrato.
- Oviposición: movimiento de puesta o expulsión de los huevos en huecos previamente excavados.

### **LOCOMOCIÓN** (Figura. 6C)

- Caminar: desplazamiento por movimientos alternos de sus extremidades lentamente.
- Correr: desplazamiento a una velocidad acelerada.
- Escalar: al menos una pata en un objeto a mayor altura que la superficie.

**AGONISTA** (Figura. 6D) Se consideró un comportamiento agonista de acuerdo con las siguientes acciones comportamentales:

- Persecución: el ejemplar camina o corre siguiendo cercanamente a otra tortuga, desplazándose por detrás o por los costados de ella.
- Mordida: movimiento de apertura y cierre rápido de mandíbulas de una tortuga dirigido hacia otra que se encuentra próxima.
- Huida: como respuesta al comportamiento anterior, la tortuga receptora esconde su cabeza dentro del caparazón y/o se aleja de la emisora del mordisco.

- Bostezo: el individuo abre ampliamente la boca y la mantiene abierta por algunos segundos, frente a otro individuo o en solitario.

#### **ALERTA** (Figura 6E)

- Alerta: individuo inmóvil, con la cabeza afuera del caparazón, el cuello estirado por completo y los ojos abiertos, observando hacia un punto fijo.

#### **ALIMENTACIÓN** (Figura 6F)

- Comer: alcanzar con la boca, morder y tirar hacia atrás para extraer comida de la fuente.
- Beber: se inicia con una postura de inclinación y luego la inmersión de la cabeza o narinas en el líquido.

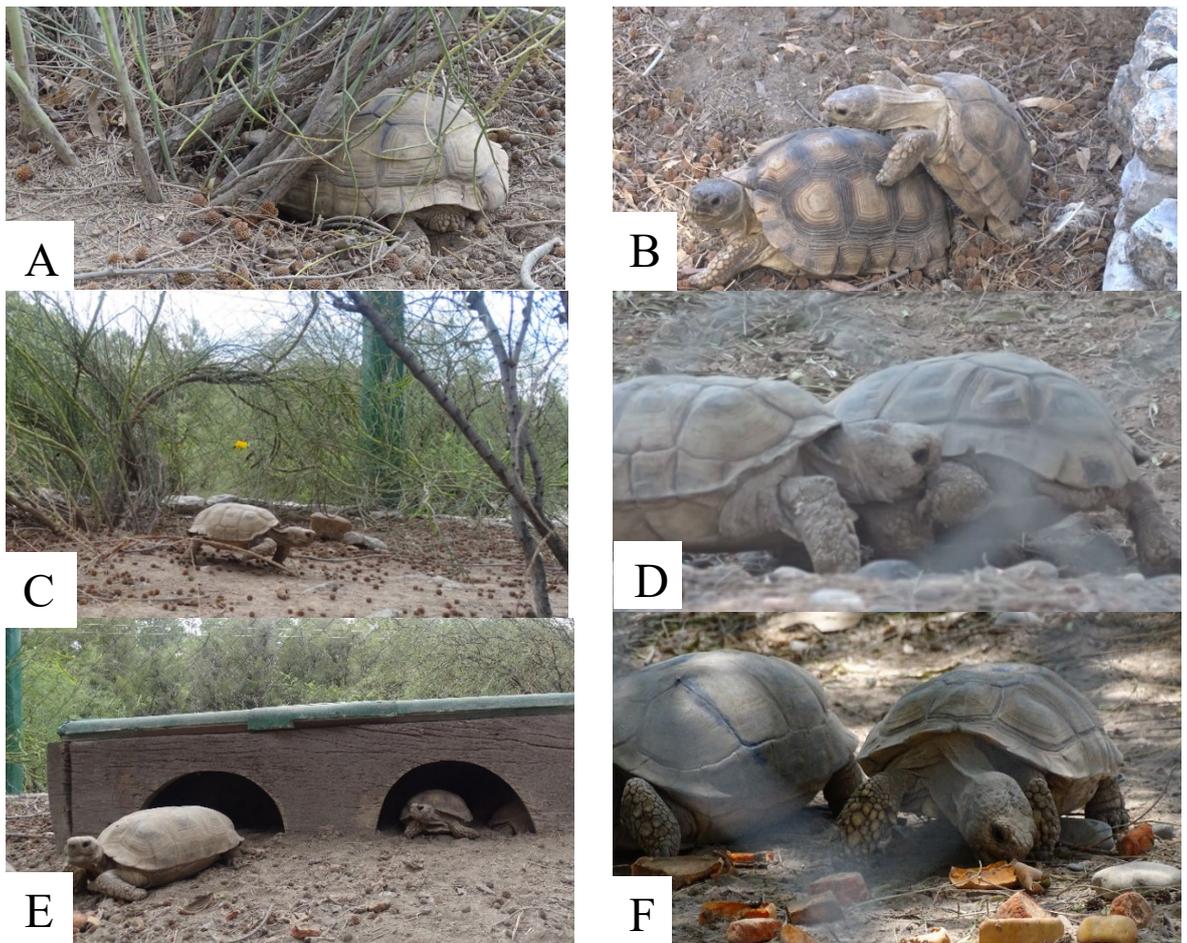


Figura 6: Imágenes de los comportamientos observados de *Chelonoidis chilensis* dentro del recinto en el Centro “Faunístico”: **A**: Descanso, **B**: Reproducción, **C**: Locomoción, **D**: Agonista, **E**: Alerta, **F**: Alimentación. (Fotos: Juan Lunardi).

### Efecto de los visitantes

En simultáneo a la toma de datos de comportamiento de las tortugas terrestres y del uso del espacio, se evaluó el efecto de los visitantes próximos al recinto de la especie en estudio. Para ello se establecieron distintos niveles según la presencia de visitantes y su distancia con el recinto donde se encontraban las tortugas. Los niveles fueron 0 (ausencia de visitantes en el Faunístico), 1 (se encuentran visitantes en el parque sin embargo están a una distancia  $>$  a 40 m del recinto), 2 (los visitantes se ubican a una distancia de entre 40 m y 20 m de distancia desde el recinto), 3 (los visitantes se ubican entre 20 m y 10 m de distancia desde el recinto) y 4 (los visitantes se ubican a una distancia de entre 10 m y 2 m, justo frente al recinto) (Figura 7). En relación a estos niveles establecidos, mientras se realizaba la toma de datos comportamentales y de uso del espacio, se obtuvieron también los datos relacionados con la presencia de los visitantes siguiendo la misma frecuencia de muestreo (Cada una hora) durante todo el rango horario previamente establecido para los otros análisis.

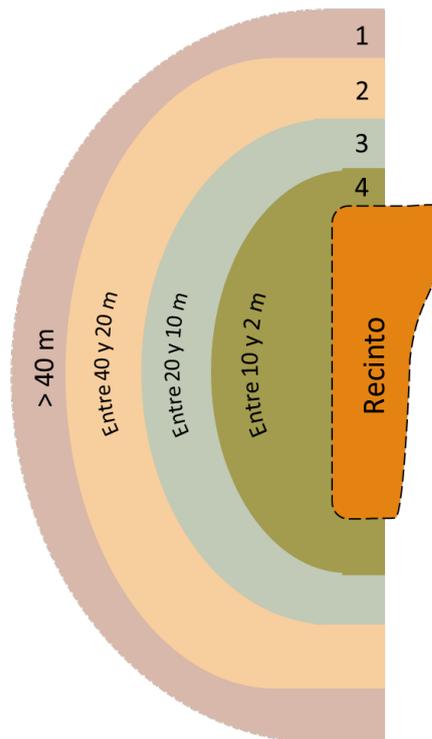


Figura 7. Diagrama de niveles de presencia de visitantes y distancia con respecto al recinto.

## Parámetros Hematológicos

### ***Obtención de muestras***

Para analizar los parámetros hematológicos, primero se obtuvieron muestras de sangre de 22 tortugas seleccionadas aleatoriamente, correspondiendo al 50% de la población existente en el Centro. Considerando el estudio de Troiano y Silva (1998) y Figueres (2015) se seleccionaron distintos puntos de extracción en el individuo con el fin de determinar la más adecuada para el estudio. A partir de esto se determinó que la vena yugular (derecha o izquierda) era el sitio de venopunción más adecuado ya que esta permitía una extracción mucho más fácil y rápida (Figura 8 y 9). De cada individuo se extrajeron entre 2 y 3ml de sangre y se combinó con 1ml de heparina. El uso de este anticoagulante fue debido a que es el más recomendado para uso en reptiles, ya que mantiene en óptimas condiciones las muestras sanguíneas para los análisis hematológicos evitando la lisis celular como producen otros tipos de anticoagulantes (EDTA) (Rodríguez-Almonacid y col., 2022). Para la colecta de estas muestras se usó material descartable y fue realizada por los veterinarios de la institución. A partir de estas se realizaron distintos preparados con el fin de analizar diversos parámetros hematológicos.



Figura 8: Procedimiento de laboratorio para la extracción de muestras sanguíneas en *Chelonoidis chilensis*. (Foto: Juan Lunardi).

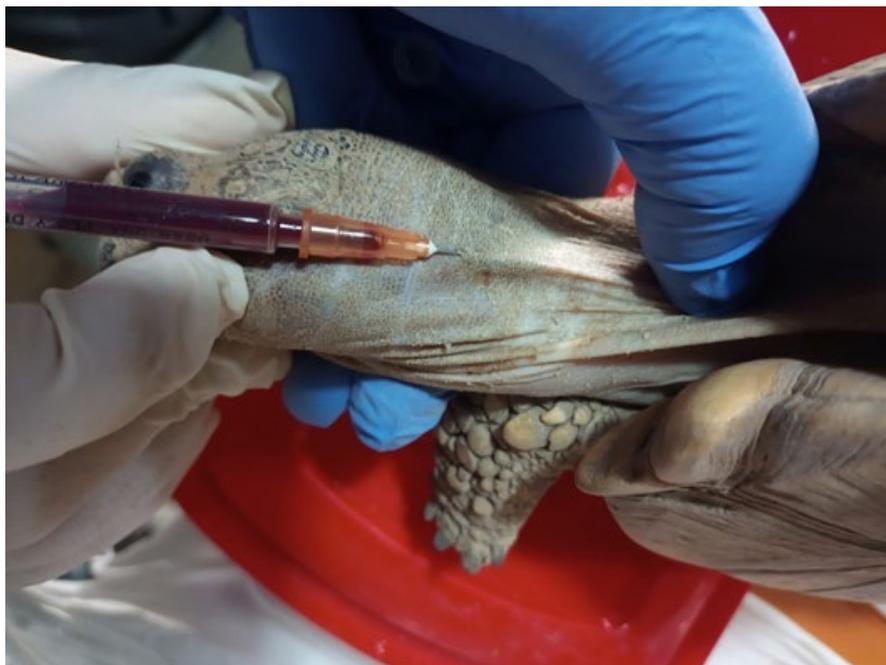


Figura 9: Extracción de sangre por venopunción de la vena yugular.

(Foto: Juan Lunardi).

### **Recuento de Eritrocitos**

En una primera instancia se realizó una dilución 1/200 de sangre en solución fisiológica para recuento de eritrocitos según la metodología planteada por Juste de Santa-Ana y Carreton (2015). Para la preparación de dicha dilución se extrajeron, mediante el uso de una micropipeta Huawei (Volumen: 1000 $\mu$ l; Figura 9), 2000 $\mu$ l de solución fisiológica y se colocaron en un tubo de ensayo plásticos con rosca tipo Falcon. Posterior a esto se extrajo con una micropipeta Huawei (Volumen: 10 $\mu$ l; Figura 10), 10 $\mu$ l de solución fisiológica del tubo de ensayo y seguido a esto se agregaron 10 $\mu$ l de sangre. Luego, se procedió a homogenizar la muestra, la cual presento una concentración de 1/200.



Figura 10: Micropipetas Huawei (volúmenes: 1000µl, 100µl y 10µl, de derecha a izquierda) utilizadas para la formulación de las diluciones.

(Foto: Juan Lunardi).

### **Recuento de Leucocitos**

Con el fin de realizar el recuento de las células correspondientes a la serie blanca, se realizó otra dilución de concentración 1/20 de sangre en solución de Türk según la metodología planteada por Juste de Santa-Ana y Carreton (2015) . Este es una solución hipotónica compuesta por un colorante y ácido acético, la cual facilita el recuento de los leucocitos que se observan refringentes y ligeramente teñidos. Para la preparación de dicha dilución se extrajeron, mediante el uso de una micropipeta Huawei (Volumen: 1000µl; Figura 10), 2000µl de reactivo de Türk y se colocó en un tubo de ensayo plástico con rosca tipo falcon. Posteriormente, se extrajo, mediante el uso de una micropipeta Huawei (Volumen: 100µl), 100µl de reactivo de Türk del tubo de ensayo y se agregó 100µl de sangre. Luego, se realizó la homogenización del preparado para su análisis.

Tanto para los recuentos de eritrocitos y leucocitos, las muestras se analizaron por medio del uso de un microscopio óptico digital a una resolución de 400X y una cámara de Neubauer, siguiendo el protocolo planteado por Juste de Santa-Ana y Carreton (2015) y posteriormente se realizaron los cálculos correspondientes para obtener el N° total de estas células.

### **Frotis o extendidos sanguíneos y recuento diferencial leucocitario**

De cada una de las extracciones, se realizaron también extendidos (frotis) los cuales se dejaron secar a temperatura ambiente, para luego teñirlos y fijarlos con tinción diferencial May Grünwald-Giemsa (Salinas, 2015). A partir de estos, se realizó la descripción y diferenciación morfológica de las células sanguíneas (eritrocitos y leucocitos) de acuerdo a Claver y Quaglia (2009), y se analizaron variaciones en los números normales de dichas células según lo establecido por Troiano y Silva (1998). En los frotis se realizó también el conteo y diferenciación de leucocitos para poder establecer la relación Heterófilos/Linfocito, un parámetro útil para determinar estrés en reptiles (Davis, 2008; Claver y Quaglia, 2009). Para realizar una estimación de la abundancia total de leucocitos, se contaron todos los tipos de leucocitos encontrados en un campo de visión, diferenciándolos entre sí según los tipos presentes en esta especie, los cuales fueron: eosinófilos, azurófilos, monocitos, basófilos, heterófilos y linfocitos. Una vez realizado esto, se pasó al siguiente campo repitiendo el proceso hasta que se contaron al menos 100 leucocitos (Davis y Golladay, 2019). Para la observación y conteos de células sanguíneas se utilizó un Microscopio Carl Zeiss primostar trinocular con cámara digital (Figura 11).

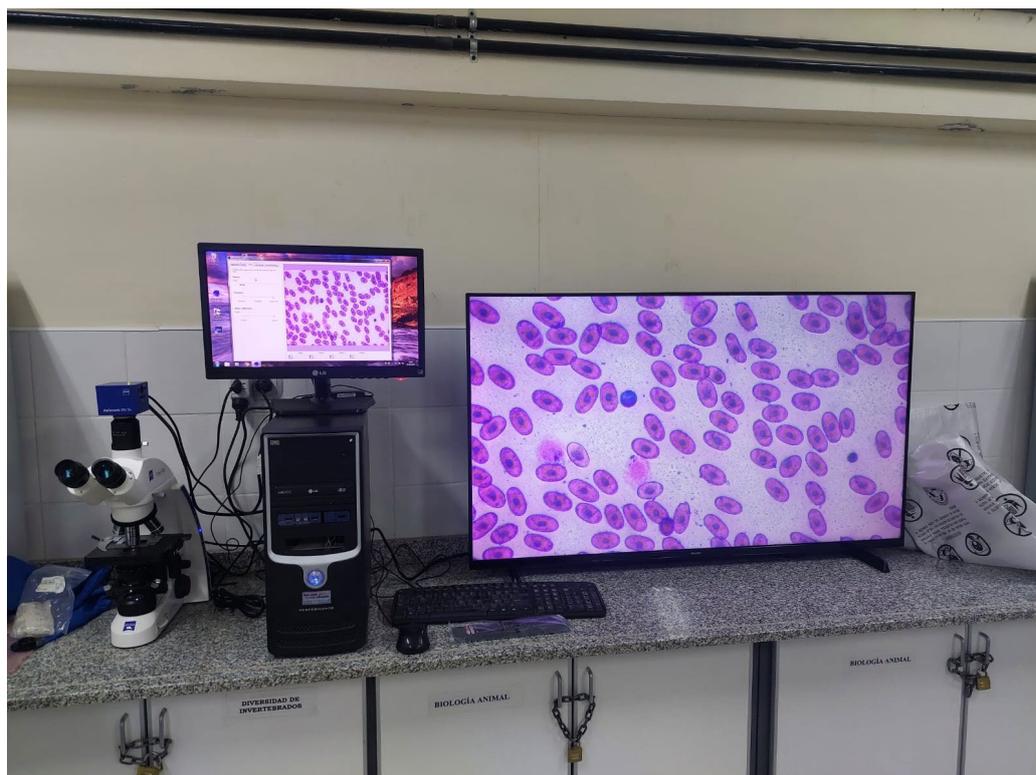


Figura 11: Microscopio Carl Zeiss primostar trinocular con cámara digital utilizado para el análisis de los frotis sanguíneos.

(Foto: Juan Lunardi).

### **Análisis de datos**

Se realizó estadística descriptiva para caracterizar la población mediante el análisis de los datos demográficos y morfométricos. Se realizó también una Prueba t de Student para diferencia de medias con el fin de evaluar si se presentaban diferencias tanto en el peso como en las medidas morfométricas entre ambos sexos.

Con la finalidad de analizar el efecto de las distintas variables en la frecuencia de uso de cada microhábitat por parte de las tortugas se realizó un modelo lineal generalizado (GLM). Se utilizó la librería de R "fitdistrplus" (Delignette-Muller y Dutang, 2015). para poder determinar a qué distribución ajustaban mejor los datos. La variable respuesta (uso) se ajustó a una distribución Binomial Negativa, cuya función de enlace es Logit (regresión Logística). El mejor modelo se determinó de acuerdo al criterio de información de Akaike (AIC). El modelo seleccionado incluyó los efectos de las variables (temperatura, microhábitat y hora) por separado y también su interacción. El nivel de significancia fue  $p=0,05$ .

**Modelo** = glm.nb (Frecuencia ~ Temperatura \* Microhábitat \* Hora, familia= negative binomial (función de enlace = "logit"))

Por otro lado, de acuerdo con lo propuesto por Kazmaier y col. (2001) y Sanchez (2012), los comportamientos observados se dividieron en categorías de "activas" o "inactivas". Definimos: a) activas, como toda tortuga que esté realizando al menos uno de los comportamientos de locomoción, alimentación, reproducción, agonismo o alerta; b) inactivas, toda tortuga que se encuentre realizando comportamientos de descanso. Para examinar diferencias en los parámetros estudiados respecto al comportamiento se llevaron a cabo pruebas de bondad de ajuste (Chi cuadrado), para observar diferencias en las frecuencias de comportamientos respecto al rango horario dividido en 3 categorías: mañana (entre las 9 y 11h), mediodía (entre las 12 y 14h) y tarde (entre las 15 y 17h).

Finalmente se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) en base a los datos de presencia o ausencia de los visitantes y los comportamientos exhibidos por los individuos en estudio, con el fin de analizar la relación entre la presencia de visitantes y la diversidad y frecuencia de los comportamientos exhibidos.

Los análisis estadísticos se realizaron aplicando el entorno estadístico R 4.2.3 (R Core Team, 2023).

## Resultados

### Caracterización de la población de Tortugas

La población de tortugas del Centro para la Conservación de la Fauna Silvestre “Faunístico” bajo estudio, estuvo conformada por 44 individuos de los cuales 29 (65,9%) fueron hembras y 15 (34,1%) machos (Figura 12). Considerando la clasificación de Bertolero y col. (2005), el 90,9% de los individuos estudiados fueron adultos (40 tortugas), mientras que 9,1% corresponden a la categoría juvenil o sub adulto. No se registró ningún infante (Figura 13).

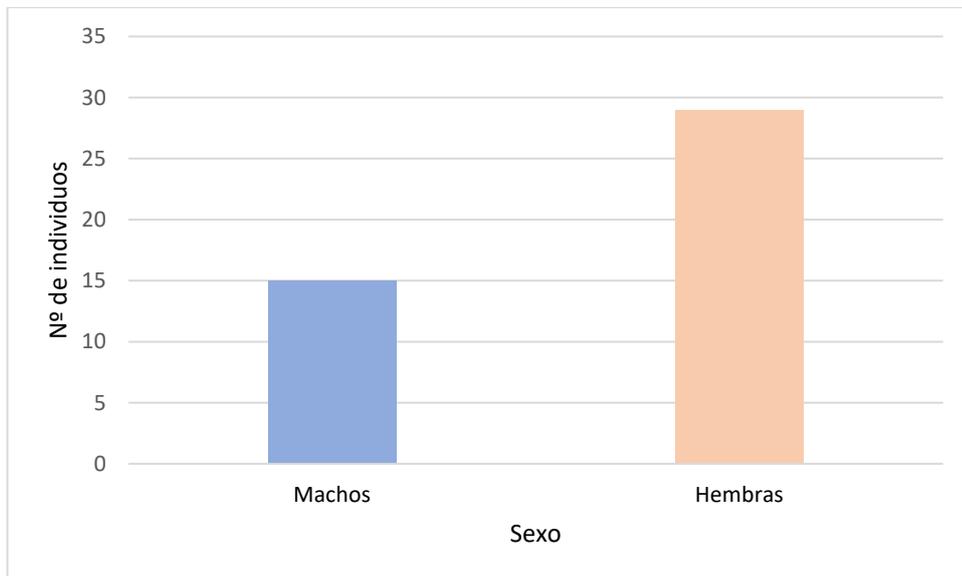


Figura 12: Número de individuos de la población de *Chelonoidis chilensis* por sexo.

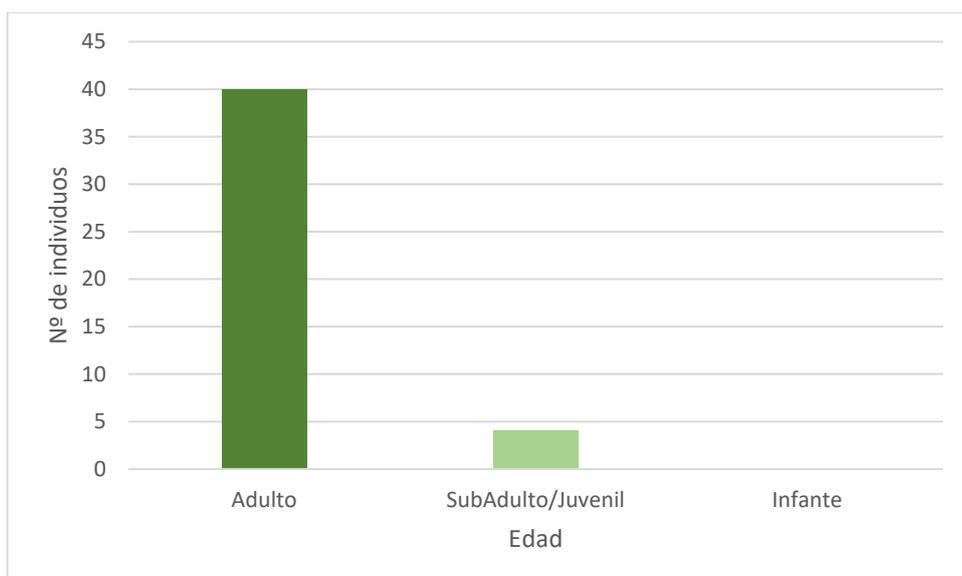


Figura 13: Número de individuos de *Chelonoidis chilensis* por grupo etario.

El peso de los individuos estuvo comprendido entre los 645 g y los 2845 g, con un peso medio por sexo de 1834 g para las hembras y 1593 g para los machos. La longitud media del largo del plastrón fue de 211,2 mm, teniendo como valor máximo a una tortuga con una longitud de 260,0 mm y como valor mínimo una tortuga con una longitud del plastrón de 147 mm.

Los resultados de la prueba t planteada arrojaron que tanto para el peso ( $t = 1,4075$ ,  $df = 42$ ,  $p\text{-value} = 0,1666$ ), el largo del plastrón (LT) ( $t = 1,0757$ ,  $df = 42$ ,  $p\text{-value} = 0,2882$ ) y el ancho del plastrón (AT) ( $t = 0,79589$ ,  $df = 42$ ,  $p\text{-value} = 0,4306$ ) no se encontraron diferencias significativas entre ambos sexos.

### Uso del hábitat

A partir de los datos recolectados se determinó que el microhábitat más utilizado por los individuos fue “Refugio” con 2287 eventos registrados durante los 15 días de muestreo, seguido (en orden decreciente) por “Vegetación”, “Suelo desnudo”, “Hojarasca”, “Sombra artificial” y finalmente el menos utilizado fue “Agua” con solamente 31 eventos (Figura 14).

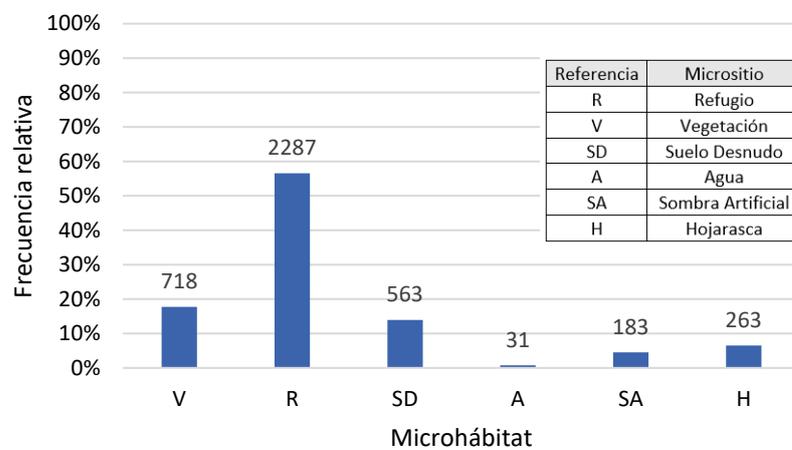
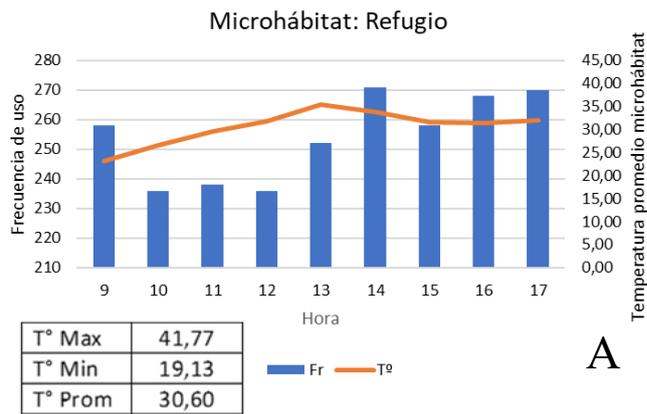
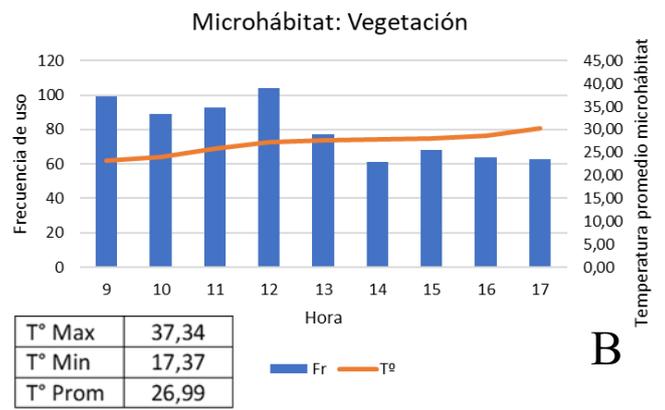


Figura 14: Frecuencia relativa de individuos de *Chelonoidis chilensis* por microhábitat. Se indica el n registrado de cada microhábitat sobre las barras.

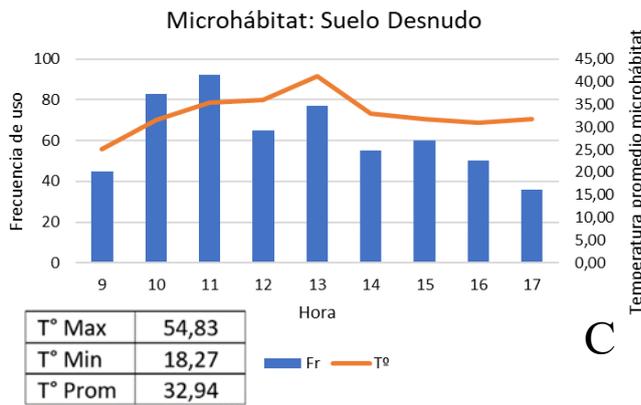
Con el fin de determinar la utilización de cada microhábitat en función de la temperatura, se analizó cómo variaba la frecuencia de utilización de estos en función de las horas, obteniendo así los siguientes datos:



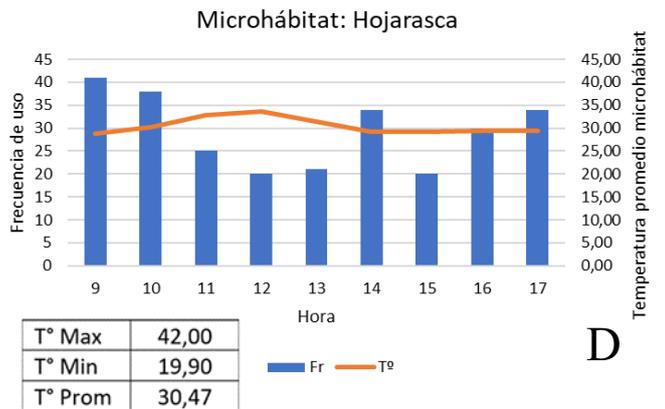
**A**



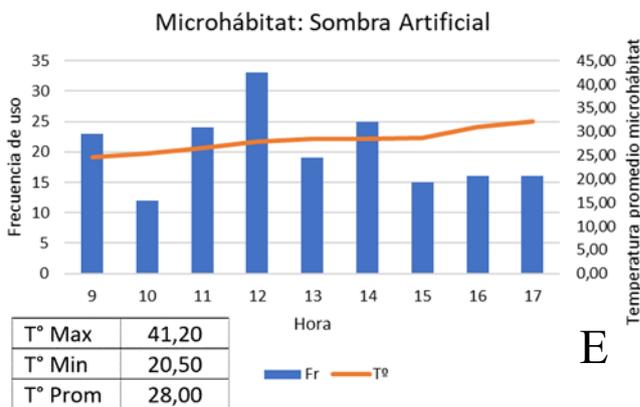
**B**



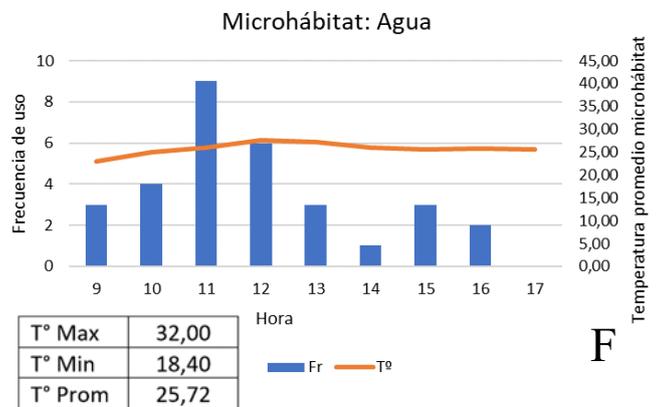
**C**



**D**



**E**



**F**

Figura 15: Frecuencias de uso de cada microhábitat por parte de *Chelonoidis chilensis* en función de la hora y la temperatura. **A:** Microhábitat “Refugio”, **B:** Microhábitat “Vegetación”, **C:** Microhábitat “Suelo desnudo”, **D:** Microhábitat “Hojarasca”, **E:** Microhábitat “Sombra artificial” y **F:** Microhábitat “Agua”.

En los márgenes inferior izquierdo de cada grafico se indican valores diarios de temperaturas maxima, minima y promedio registrados para cada microhábitat .

A partir de los datos obtenidos se analizó la frecuencia de uso de microhábitat en relación a las horas del día muestreadas y, al igual que indica la Figura 14, el microhábitat con mayor frecuencia de utilización por los individuos fue el “Refugio”. Este microhábitat tuvo mayor frecuencia principalmente en las primeras horas de la mañana (hasta las 9 h), coincidiendo con las horas donde la temperatura exterior a este microhábitat es más baja (23°C) y a partir de las 14 horas, cuando la temperatura exterior presentó sus picos máximos (> 35°C). Por otro lado, en el microhábitat “Vegetación” se observó una mayor frecuencia de ocupación en las primeras horas de la mañana, llegando incluso al mediodía (rango horario: 9 h a 12 h), mientras que la frecuencia de uso de este microhábitat comenzó a disminuir posterior a las 13h. Esto se puede contrastar con lo ocurrido en “Refugio” ya que las horas de máxima ocupación del microhábitat “Vegetación” corresponden a las horas donde el microhábitat “Refugio” era menos usado.

Simultáneamente, en el microhábitat “Suelo Desnudo” (Figura 15C), caracterizado por su prácticamente nula cobertura vegetal y por consiguiente alta variación térmica; presentó su pico de actividad posterior al periodo de descenso de la actividad en el refugio, en el rango entre las 10 h y las 13 h cuando, si bien este microhábitat presentó temperaturas superiores al resto (35°C), también fueron los horarios de mayor actividad dentro del recinto. A partir de las 14 h la frecuencia de actividad en este microhábitat decrece, coincidiendo con un efecto retardado del pico máximo de temperatura en este (>45°C) y el aumento en la frecuencia de uso de “Refugio”.

En el caso del microhábitat “Hojarasca”, también presentó un pico de actividad correspondiente a las primeras horas de la mañana (9 h - 10 h), disminuyendo la frecuencia de su uso hacia el mediodía. Posteriormente volvió a incrementarse su uso en las horas de la tarde (14 h - 17 h) donde la temperatura se mantuvo cercana a los 30°C.

El microhábitat “Sombra Artificial” mostró un pico máximo de actividad sobre el mediodía (12 h) y otros 3 picos inferiores correspondientes a las 9 h, 11 h y 15 h respectivamente. La frecuencia de uso de este microhábitat descendió sobre las 15 h.

Por último, en el microhábitat “Agua”, que fue el menos utilizado, tuvo solamente un pico de actividad sobre las 11 h, disminuyendo su frecuencia de uso pasado el mediodía y en la tarde.

## Modelado de hábitat

Primero se analizó la distribución de los datos, realizando la prueba de normalidad para constatar el supuesto de que su distribución no era normal, debido a que los datos derivaban de un conteo. El test de Shapiro-Wilk arrojó un valor de  $p < 0.01$ , por lo cual se rechaza la  $H_0$  (Los datos presentan distribución normal), confirmándose nuestro supuesto.

Tabla 1: Resultados del modelo lineal generalizado (GLM) planteado con interacciones

Variable	Valor p
Temperatura	< 0,005
Microhábitat	< 0,005
Hora	< 0,005
Temperatura : Microhábitat	< 0,005
Temperatura : Hora	0,752
Microhábitat : Hora	< 0,005
Temperatura : Microhábitat : Hora	< 0,005

Null deviance	4.441,492	53 df
Residual deviance	32,212	30 df

Los resultados del modelo indicaron que cada una de las variables tuvo un efecto significativo sobre la frecuencia de uso. Se encontró que el efecto de la interacción entre las variables fue significativo a excepción de la interacción entre las variables Temperatura y Hora ( $p=0,752$ ) (Tabla 1).

Según los estimados del modelo, la interacción entre las variables explicativas Temperatura, Microhábitat “Refugio” y Hora, fue la que presentó mayor efecto significativo sobre la frecuencia de uso (estimado= 0,1666; error estándar= 0,1202;  $p= 0,00538$ ).

## Evaluación Comportamental

### Análisis de frecuencias

En base al etograma confeccionado anteriormente, se registró la frecuencia de cada uno de los comportamientos llevados a cabo por parte de los individuos. Se registraron un total de 3981 comportamientos, lo que corresponde a un 67% del total de datos posibles, considerando al 100% la situación donde todas las tortugas hubieran sido registradas en todos los eventos de muestreo.

De estos 3981 comportamientos analizados, se observó que el 73,85% corresponde a comportamientos de tipo inactivo, mientras que el restante 26,15% corresponden a comportamientos de tipo activo (Tabla 2).

Tabla 2: Número total de observaciones y porcentaje de frecuencia (relativa al total de observaciones) de comportamientos mostrados por *Chelonoidis chilensis*.

Comportamiento	Fr	Fr %		
Descanso	2940	73,85	Inactivos	73,85%
Alimentación	247	6,2	Activos	26,15%
Alerta	291	7,3		
Agonista	63	1,6		
Locomoción	358	9,0		
Reproducción	82	2,1		
Total	3981	100%		

El comportamiento más abundante fue “Descanso” presentando 2940 eventos, lo que corresponde a un 73,85% del total de las observaciones. Este comportamiento fue seguido en orden de frecuencia por “Locomoción”, “Alerta”, “Alimentación”, “Reproducción”, y finalmente el comportamiento menos frecuente fue “Agonista” con 63 eventos, significando solamente un 1,6% del total de las observaciones.

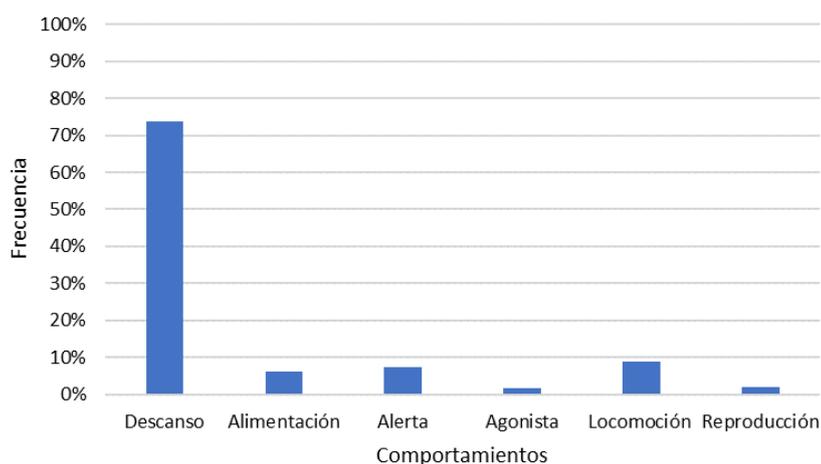


Figura 16: Frecuencia de cada comportamiento expresada en porcentajes en relación al número total de comportamientos observados.

### Variación de los comportamientos a lo largo del día



Figura 17. Patrón de actividad diario por parte de *Chelonoidis chilensis* en función de las horas.

Por medio del análisis de los comportamientos activos se determinó el patrón de actividad de la población en estudio. Tal como se muestra en la Figura 17 se observó un aumento de actividad en las primeras horas de la mañana hasta llegar a un pico máximo al mediodía (entre las 12 y 13 horas). Posteriormente comienzo a decrecer el número de individuos hasta la última hora de muestreo, mostrando así una marcada tendencia unimodal de actividad.

Además, se analizó la frecuencia de cada comportamiento en función de las horas con el fin de estudiar el patrón de actividad. El comportamiento “Descanso”, como se mencionó anteriormente, fue el más frecuente, y presentó una distribución homogénea durante todas las horas del día (Figura 18A). Por medio de la prueba de bondad de ajuste (Figura 19A) se observó que el comportamiento descanso presentaba desvíos en la frecuencia observada respecto a la frecuencia esperada, ya que este comportamiento fue más frecuente en la tarde que en el resto de rangos horarios. Sin embargo, según la prueba de chi cuadrado, este desvió no fue significativo ( $\chi^2 = 2,518$ ; d.f. = 2;  $p = 0,2839$ ), por lo cual se aceptó  $H_0$  (no hay diferencias entre las frecuencias de ocurrencia observadas y esperadas para el comportamiento descanso en los distintos rangos horarios). El resto de comportamientos también presento ciertos desvíos de la frecuencia observada en relación a la frecuencia esperada. Tanto “Locomoción” como “Alimentación”, “Alerta” y “Reproducción” (Figura 18B, Figura 18C, Figura 18D, Figura 18E, Figura 19B, Figura 19C, Figura 19D, Figura 19E); fueron más frecuentes en la mañana. La prueba de chi cuadrado para estos comportamientos arrojó que estas diferencias fueron significativas tal como se muestra en la Tabla 3 por lo cual se rechazó  $H_0$  (no hay diferencias

entre las frecuencias de ocurrencia observadas y esperadas para estos comportamientos en los distintos rangos horarios) permitiendo comprobar la tendencia de ocurrencia observada en los gráficos. Por último, “Agonismo” presento desviaciones en las frecuencias mostrando una tendencia de ocurrencia sobre el mediodía (Figura 18F, Figura 19F). Las pruebas de chi cuadrado arrojaron que esta diferencia era significativa ( $X^2= 16,667$ ; d.f.= 2;  $p = 2,40E-04$ ).

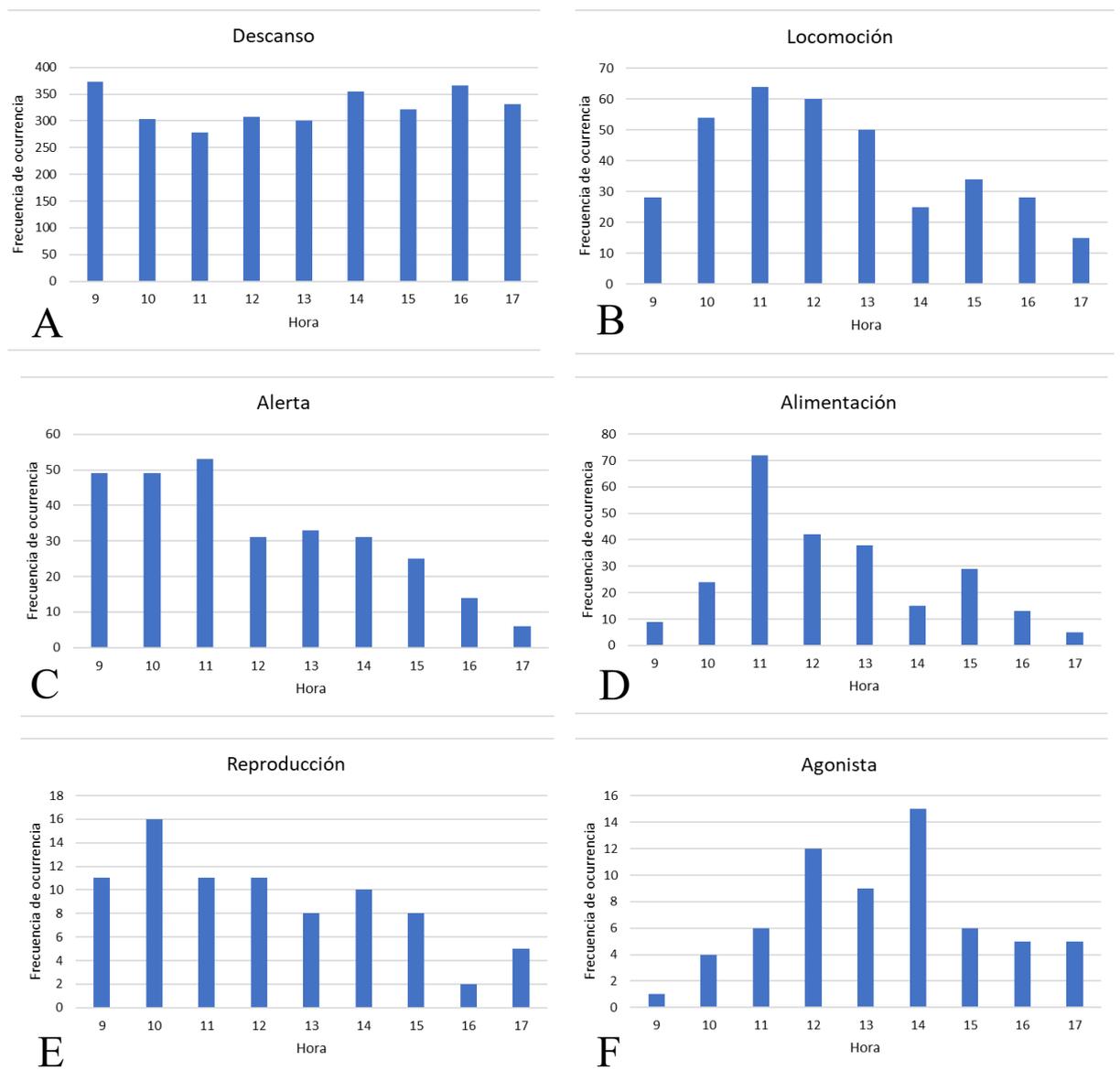


Figura 18: Frecuencias de ocurrencia de los distintos comportamientos en función de las horas de muestreo.

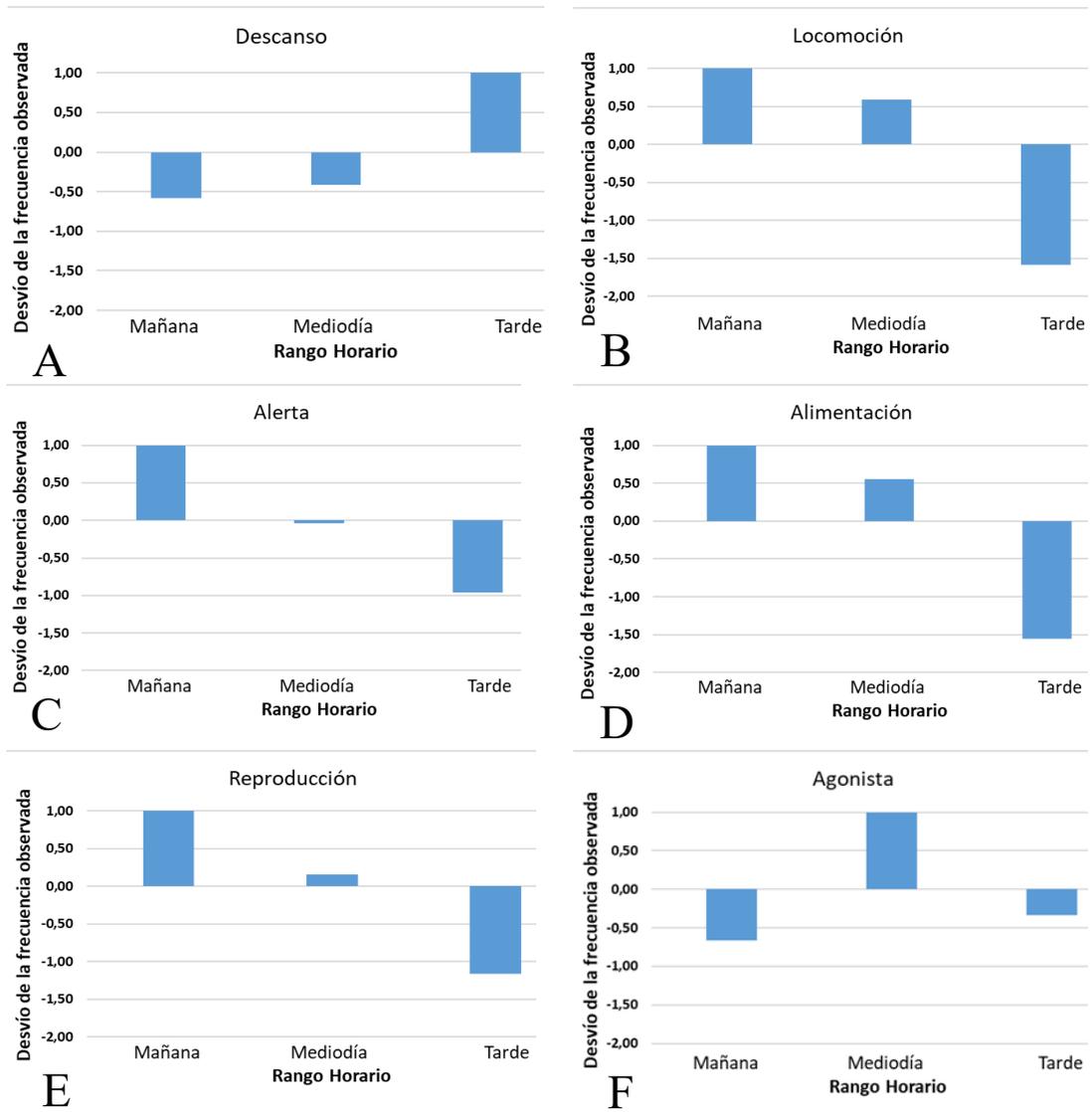


Figura 19: Diagramas de desvíos de frecuencias observadas versus esperadas de cada comportamiento de *C. chilensis* por rango horario. H0: no hay diferencias entre las frecuencias de ocurrencia observadas y esperadas para cada comportamiento en los distintos rangos horarios.

Tabla 3: Tabla de valores de la prueba Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) separadas por comportamiento.

Comportamiento	$\chi^2$	d.f.	p
Descanso	2,518	2	0,2839
Alimentación	23,352	2	8,49E-06
Alerta	57,979	2	2,57E-13
Agonista	16,667	2	2,40E-04
Locomoción	23,034	2	9,96E-06
Reproducción	9,829	2	7,34E-03

### Efecto de los visitantes

Como se puede observar en la Tabla 4, el primer componente del PCA nos permite explicar casi la totalidad de la variación de los datos, por lo cual solo se tomaron las dos primeras componentes.

En base a lo que indica la Figura 20, se puede observar la existencia de relaciones entre los distintos niveles de presencia de visitantes y los comportamientos mostrados por los individuos de la población en estudio. Como se observó existe una asociación entre el comportamiento alimentación y el nivel 4 de presencia de visitantes (se encuentran a una distancia menor a 10 m, frente al recinto). También se observó una mayor diversidad de comportamientos asociados a los distintos niveles de presencia de visitantes (1, 2, 3 y 4), mientras que el nivel 0 (ausencia de visitantes), no presenta ningún tipo de asociación con algún comportamiento.

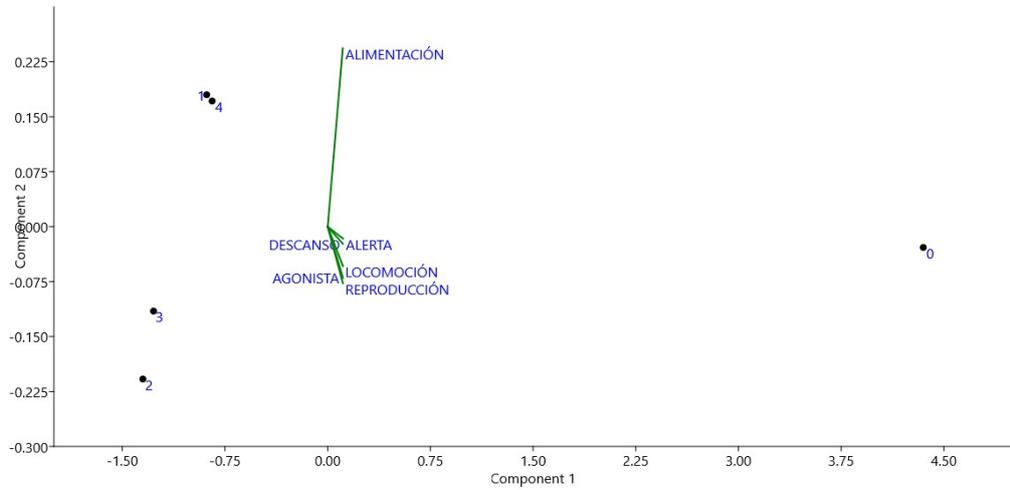


Figura 20: Diagrama de ordenamiento de Componentes Principales (PCA) entre los distintos comportamientos de *Chelonoidis chilensis* y la presencia de turistas en el Centro.

Tabla 4: Resumen de resultados del Análisis de Componentes Principales (PCA).

Resultados PCA		
Visitas	PC 1	PC 2
0	4,35	-0,03
1	-0,88	0,18
2	-1,35	-0,21
3	-1,27	-0,11
4	-0,84	0,17

PC	Autovalor	% Varianza
1	5,96	99,39
2	0,03	0,49

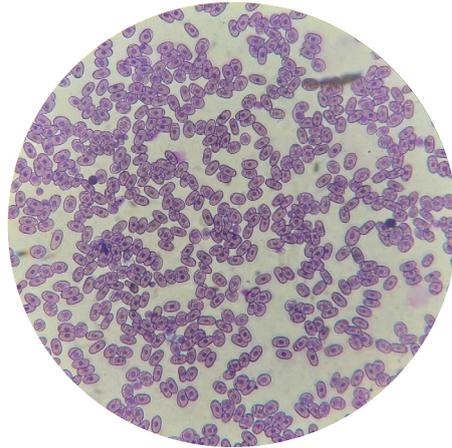
## Hematología

Como se observa en la tabla 5, el valor promedio de eritrocitos fue 650000 por  $\text{mm}^3$  aproximadamente. En el caso de los glóbulos blancos el valor promedio fue de 2205 por  $\text{mm}^3$  de sangre. No se encontraron variaciones en los números relacionadas a ninguna sintomatología, ya que en aquellos individuos que presentaban síntomas de enfermedad, tanto la serie roja como blanca presentaba valores normales. Tampoco se encontraron diferencias significativas de estos valores entre los distintos sexos (serie roja ( $t = -1,0545$ ,  $df = 20$ ,  $p\text{-value} = 0,3042$ ); serie blanca ( $t = -0,41348$ ,  $df = 18$ ,  $p\text{-value} = 0,6841$ )).

Tabla 5: Valores hematológicos de *Chelonoidis chilensis* obtenidos por medio de conteo directo en cámara de Neubauer.

Serie roja			
	Promedio	Máximo	Mínimo
Eritrocitos	654773	1030000	290000
Serie blanca			
	Promedio	Máximo	Mínimo
Leucocitos	2205	4650	500

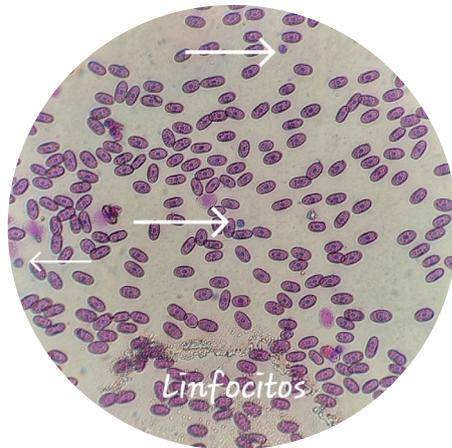
Por otra parte, a partir del análisis de los frotis se realizó una diferenciación y descripción morfológica de las células sanguíneas observadas, las que se muestran y mencionan en la Figura 21.



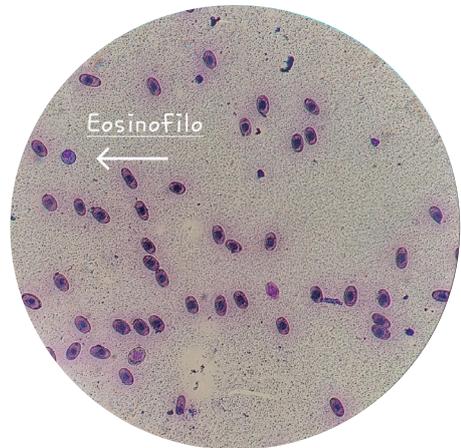
Eritrocitos



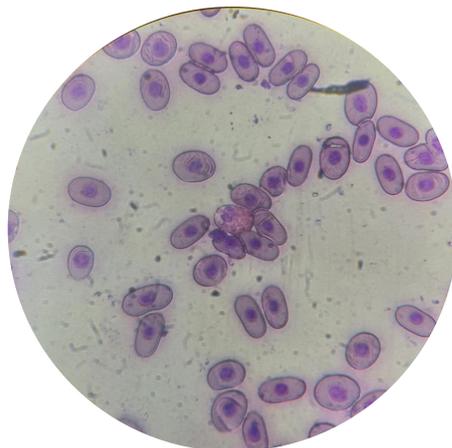
Azurófilos



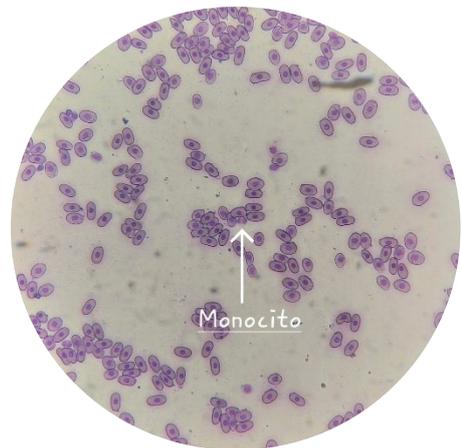
Linfocitos



Eosinófilos



Heterófilos



Monocitos

Figura 21: Visualización diferencial de células sanguíneas de *Chelonoidis chilensis* a partir de frotis.

(Fotos: Juan Lunardi)

Sin discriminar por sexos, en el cálculo de la proporción relativa de cada tipo celular, tomada del promedio de las 22 muestras, se observó que los glóbulos blancos más abundante fueron los linfocitos, mientras que los menos hallados fueron los eosinófilos (Tabla 6).

Tabla 6: Valores de la serie blanca de *Chelonoidis chilensis* analizadas por medio del conteo diferencial en frotis sanguíneos.

General					
Tipo Celular	Promedio	E. E.	N° Max	N° Min	Proporción relativa
Eosinófilos	0,41	0,73	3	0	0,41%
Azurófilos	0,86	1,04	3	0	0,86%
Monocitos	1,50	1,97	6	0	1,50%
Basófilos	3,18	2,74	12	0	3,17%
Heterófilos	26,23	10,35	51	10	26,16%
Linfocitos	68,09	11,38	83	41	67,91%

Se realizó además la diferenciación de estos valores entre machos y hembras, debido a que la muestra estuvo compuesta por igual número de individuos de cada sexo. Si bien se halló cierta variación en las proporciones de tipos de leucocitos entre ambos sexos, solo se halló una diferencia significativa en los valores de Basófilos (Tabla 9). Las proporciones por sexo para cada tipo celular se muestran en las tablas 7 y 8.

Tabla 7: Valores de la serie blanca de machos de *Chelonoidis chilensis*.

Machos					
Tipo Celular	Promedio	E. E.	N° Max	N° Min	Proporción relativa
Eosinófilos	0,50	0,90	3	0	0,50%
Azurófilos	1,00	1,21	3	0	1,00%
Monocitos	2,08	2,35	6	0	2,09%
Basófilos	4,25	2,93	12	1	4,27%
Heterófilos	27,00	12,91	51	10	27,11%
Linfocitos	64,75	13,05	80	41	65,02%

Tabla 8: Valores de la serie blanca de hembras de *Chelonoidis chilensis*.

Hembras					
Tipo Celular	Promedio	E. E.	N° Max	N° Min	Proporción relativa
Eosinófilos	0,30	0,48	1	0	0,30%
Azurófilos	0,70	0,82	2	0	0,69%
Monocitos	0,80	1,14	3	0	0,79%
Basófilos	1,90	1,91	5	0	1,88%
Heterófilos	25,30	6,67	39	16	25,02%
Linfocitos	72,10	7,82	83	54	71,32%

Tabla 9. Valores prueba t de Student para diferencia de medias entre sexos de cada tipo celular.

Diferencias entre sexos			
Tipo celular	t	d.f.	Valor p
Eosinófilos	0,627	20	0,5378
Azurófilos	-0,667	20	0,5127
Monocitos	-1,574	20	0,1312
Basófilos	-2,176	20	0,0416
Heterófilos	-0,375	20	0,7110
Linfocitos	1,559	20	0,1346

Posterior al análisis de las proporciones se evaluó el índice H/L (Heterófilos/Linfocitos). El valor promedio de este fue de 0,42, mientras que separando por sexos se obtuvo un mayor valor promedio en los machos y menor en las hembras (Tabla 10) sin embargo la diferencia no fue significativa ( $t = -0,95868$ ,  $df = 20$ ,  $p\text{-value} = 0,3492$ )

Tabla 10: Valores promedio del Índice H/L (Heterófilos/Linfocito) en la población en estudio.

Grupo	H/L
General	0,4269907
Machos	0,47855261
Hembras	0,36511641

## **Discusión**

En base a los resultados obtenidos se observó que las tortugas pertenecientes a nuestra población en estudio presentan un tamaño acorde a lo descrito para esta especie por otros autores (Richard, 1999; Zuliani, 2014; Stazzonelli, 2020), sin embargo, en nuestra población no se observa un dimorfismo sexual reportado por Zuliani (2014) para las variables morfométricas analizadas. La mayoría de los individuos de la población estudiada son adultos, y solo un pequeño porcentaje subadultos, debido a que la mayoría de los individuos llegaron al centro de conservación a causa de donaciones voluntarias por particulares o decomisos por parte de las autoridades de fauna. Según Cabrera (2020), las tortugas son principalmente extraídas de la naturaleza cuando son juveniles y llegan a los centros luego de un periodo largo como mascotas en casa de particulares.

### **Uso de hábitat**

En cuanto al uso de hábitat, se observó que, las tortugas realizan un uso heterogéneo del espacio dentro del recinto, usando ciertos microhábitats más que otros. De acuerdo a nuestros resultados, el microhábitat “Refugio” fue el más seleccionado por los individuos en la primera hora de la mañana y en las horas de la tarde (sobre las 14 h. cuando la temperatura ambiental presentó su pico máximo), posiblemente debido a una temperatura más estable durante las horas de mayor temperatura. Esto pudo observarse en la interacción significativa entre las variables incluidas en el modelo planteado (Tabla 1). Como se observó, el microhábitat “Vegetación”, en contraste al microhábitat “Refugio”, fue más frecuentemente usado durante la mañana hasta el mediodía, lo que puede estar relacionado con actividades comportamentales tales como la termorregulación. En general, estos individuos requieren espacios enriquecidos ambientalmente que ofrezcan condiciones que favorezcan su funcionamiento fisiológico y por tanto a su bienestar tales como pueden ser sustratos naturales, vegetación o recursos que suelen obtener en la naturaleza (Recuerda y col., 2003). En estado silvestre durante las horas de mayor temperatura, estos individuos se resguardan del sol entre la vegetación, levemente escondidas, o en madrigueras excavadas por ellas o por otros animales (Stazzonelli, 2020) como estrategia de termorregulación, debido a la gran diferencia térmica que ha sido registrada entre estos sitios de refugio/protección y la

temperatura exterior (Richard, 1999). Esto se observó al analizar la frecuencia de individuos en el microhábitat suelo desnudo, ya que este, si bien tuvo una alta frecuencia de registros en las horas de la mañana (principal horario de actividad de los individuos), sobre el mediodía y tarde la frecuencia disminuyó, posiblemente debido a que en las horas de la siesta alcanzaba su pico de temperatura sobrepasando los 45° C (Figura 15), ya que al tener nula cobertura vegetal presentaba una alta incidencia solar. Algunos autores han descrito que, tanto en laboratorio como en cautividad, la temperatura ambiental preferida para esta especie se encuentra entre los 22 y los 30° C (Buteler, 2017). En especies emparentadas como es el caso de *Chelonoidis carbonaria* se han obtenidos resultados similares, teniendo un margen de temperaturas preferidas aún más reducido (24 a 29° C) (Noss y col., 2013). La existencia de comportamientos activos, aun superando estas temperaturas, denota una elevada tolerancia térmica por parte de la población en estudio. Esto fue reportado por Zuliani (2014) cuando analizó la termorregulación de individuos de *C. chilensis* en cautiverio, sin embargo, cuando la temperatura aumentaba, las tortugas mostraban rasgos de sobrecalentamiento y su actividad se reducía. Esto sucedía principalmente durante las horas más calurosas del día y conllevaba a que los individuos eviten ciertos microhábitats y seleccionen otros donde la temperatura era menor. Cabe destacar que el aumento de frecuencia en el uso del microhábitat suelo desnudo sobre las horas de la mañana no solo tiene una explicación relacionada a las temperaturas ambientales y a acciones termoregulatorias por parte de las tortugas, sino también al manejo de la especie que se lleva a cabo en el Centro Faunístico, ya que al menos dos zonas donde se suministra el alimento, se encuentran dentro de este microhábitat y, además, el horario de alimentación asignado por el personal a cargo de esta especie es entre las 10 h y las 12 h (observación personal).

En el caso del microhábitat “Sombra Artificial”, los cambios en su frecuencia de uso respecto de las horas podrían responder a un aumento en la insolación debido a la posición de las estructuras de sombra y a la modificación de la posición del sol al avanzar las horas.

De igual manera, existen otros factores ambientales y fisiológicos no analizados en este estudio que pueden entrar en juego en el mayor uso de un microhábitat por encima de otros. Algunos ejemplos de ellos son: irradiación solar del microhábitat, la intensidad de la luz durante el asoleo, orientación del cuerpo de los individuos hacia la luz, composición del sustrato, velocidad del viento, entre otros (Buteler, 2017).

Otra característica que explicaría la frecuencia de utilización de cada microhábitat es la superficie de representación de cada uno de estos, siendo el microhábitat suelo desnudo el más representado en el recinto (110,9m<sup>2</sup>) mientras que otros tales como refugio (4,92m<sup>2</sup>), sombra artificial (2m<sup>2</sup>) y agua (0,78m<sup>2</sup>) presentan una menor representatividad dentro de la superficie total del recinto. El recinto presenta una superficie total de 160m<sup>2</sup> lo cual es inferior a lo estipulado para especies de tortugas similares donde se establece un tamaño mínimo de recinto 3x4 m (12 m<sup>2</sup>) por cada tres individuos (Boycott y Bourquin, 2000). Al presentar un plantel estable de 44 tortugas al momento de realizarse el estudio, la superficie del recinto mínima adecuada sería de 176 m<sup>2</sup>, por lo cual el recinto se encuentra levemente sobrepoblado (aproximadamente 4 tortugas por encima de su capacidad máxima), lo que puede conllevar a la aparición de ciertas enfermedades o competencia por la escasez en la accesibilidad en uso del espacio entre los individuos si esta situación poblacional se agrava. El resto de los requerimientos edilicios del recinto como bebederos, sitios de refugio, vegetación y distintos tipos de sustratos propuestos por Boycott y Bourquin (2000) y por Buteler (2017) si se encuentran disponibles dentro del recinto o fueron modificados y colocados posteriormente a la realización del estudio. Cabe destacar que el recinto se encuentra enriquecido, ya que presenta diferentes estructuras de refugio o protección tanto naturales como artificiales como así también la presencia de diversas especies de flora nativa que están presentes en las áreas de distribución de esta especie, incluyendo especies que presentan una importancia alimentaria en condiciones de silvestría como son algunos integrantes de la familia *Cactaceae* y múltiples *Leguminosa*. Esto adquiere un importante valor, ya que le confiere mayores condiciones y recursos “naturales” a un recinto ya de por si bastante complejo. Es por ello que podemos denotar que los individuos de nuestra población presentan un mayor nivel de bienestar en el recinto actual que en el que se encontraban cuando Zuliani (2014) realizó sus estudios.

### **Evaluación comportamental**

Posterior al análisis de uso de hábitat, los resultados sobre la frecuencia de comportamientos activos mostrados por estos individuos (26,15%) sugieren que esta población de *Chelonoidis chilensis* presenta baja frecuencia de observaciones en actividad dentro de un rango de temperaturas y horarios acotados (aunque el rango de temperaturas donde presenta

actividad es amplio, presenta pocos momentos durante el día donde está activa). Esto concuerda con lo expuesto por Zuliani (2014) y Buteler (2017) en condiciones de cautiverio. Así mismo, los horarios de actividad se encuentran principalmente relacionados con comportamientos de locomoción (9%), alerta (7%) y alimentación (6,2%). La alta frecuencia de comportamientos inactivos (73,85%) ha sido reportada para esta especie en otros estudios (81,86% del total de las observaciones, Buteler 2017), como para especies relacionadas, entre ellas *C. carbonaria* (72% del total de las observaciones) por Noss y col. (2013) y también para otras especies de tortugas terrestres como *Gopherus agassizii* (89% del total de las observaciones; Duda y col., 1999). Esto parece indicar que la inactividad es un estado frecuente en los quelonios, tanto en estado silvestre como en cautividad, lo que puede deberse a la propia fisiología del grupo. Algunos autores han relacionado las altas frecuencias de comportamientos inactivos con enfermedades (Wimberger y col., 2011) o estrés, ya sea por la presencia de depredadores, humanos o ambientes poco estimulantes (DeNardo, 2005) o mala adaptación al ambiente (Richard, 1999). Cabe destacar que esto no corresponde a nuestro caso en estudio ya que los datos obtenidos a partir de los análisis realizados, indican que los individuos demuestran un cierto nivel de bienestar. Además solo se identificaron 2 individuos con algún tipo de síntomas anormales que fueron tratados por los veterinarios encargados.

Los resultados de las pruebas de bondad de ajuste y chi cuadrado de ajuste indicaron que las frecuencias de ocurrencia de algunos comportamiento observadas son diferentes a las frecuencias esperadas. Esto indicó que los comportamientos expresados por la población varían de manera desigual a lo largo del día, presentando entonces un ritmo de actividad propio para la especie, y para este ambiente denotando que la aparición o frecuencia de ocurrencia de ciertos comportamientos parecería estar relacionada a ciertos rangos horarios y de temperatura como se ha observado en otras especies de quelonios terrestres (McMasters y Downs, 2013). Sin embargo, el comportamiento descanso, clasificado dentro de la categoría inactivos, no presento diferencias significativas, lo cual denoto que la frecuencia de este comportamiento no estaría relacionada a ciertos rangos horarios y de temperatura ( ya que se distribuyó de manera homogénea dentro del día) sino a la alta frecuencia de comportamientos inactivos de esta especie y quelonios en general descritos anteriormente.

En relación a lo anteriormente mencionado, analizando los datos obtenidos tanto del uso de microhábitat como de la actividad comportamental, se puede decir que el patrón de actividad diaria de la población depende de la temperatura, tal como se ha visto en otras especies de tortugas terrestres (*Kinixys spekii*; Hailey y Coulson, 1996), lo cual es una característica propia del grupo, como también de otros animales ectotermos. Este patrón de actividad observado en la población fue de carácter unimodal como observo Buteler (2017) para esta misma especie y Perez y col. (2002) para individuos de *Testudo graeca*, pero diferente a lo registrado para otras especies de quelonios del desierto americano (Tucker y col., 2015; Germano, 2017). Esta alternancia en la actividad, que implica el retiro y permanencia en inactividad durante varias horas al día, permite evadir las altas temperaturas, evitando así el sobrecalentamiento y la deshidratación (Zuliani, 2014).

### **Efecto de los visitantes**

Los estímulos producidos por los visitantes pueden producir modificaciones en la conducta de animales en cautiverio (Hamilton, 2022), como así también conllevar al desarrollo de estrés, no obstante, el efecto observado en este estudio no fue negativo. Existió una asociación que resulto destacable y fue la relacionada con el nivel de mayor cercanía de los visitantes (Nivel 4) y el comportamiento alimentación. Esto puede deberse a que los individuos relacionen la presencia cercana de humanos con el suministro de alimento, ya que principalmente los cuidadores del Centro entran al recinto solo en momentos de alimentación, como también para realizar tareas de mantenimiento (observación personal). A si mismo cabe destacar que la mayor parte de nuestra población corresponden a individuos extraídos de la naturaleza en estadios tempranos del desarrollo, y criados o mantenidos en cautiverio durante gran parte de su vida (observación personal). Este acostumbramiento y asociación de las personas con el alimento se evidenció durante el estudio al observar cómo los individuos salían de sus refugios y se acercaban tanto a los sitios de alimentación como al vallado perimetral. Este tipo de fenómenos de impronta o acostumbramiento (Clark, 2020) está poco estudiado en reptiles (Carpenter y Ferguson, 1977; Benn y col., 2019 ) y menos aún en tortugas (Mueller-Paul y col, 2012). Sin embargo, se ha demostrado que la presencia de conductas estereotipadas puede utilizarse para inferir un déficit de condiciones (nutricionales, ambientales, comportamentales, etc.), en algún momento del desarrollo del individuo, que provocaron que

el animal adoptara este comportamiento (Benn y col., 2019). Una alternativa para disminuir la ocurrencia de estos comportamientos estereotipados o esta asociación comportamental es plantear modificaciones en el manejo de la especie por parte del personal del “Faunístico” como podrían ser: alimentación en horarios por fuera del patrón de actividad de estos individuos, aleatorización de los sitios de alimentación e implementación de una mayor cantidad de barreras visuales naturales o artificiales entre los individuos y los visitantes.

Como se observó en nuestro análisis, la mayor diversidad de comportamientos estuvo asociada a la presencia de visitantes cercanos al recinto. Esto ya había sido observado en otras especies de reptiles tales como el Lagarto de cristal europeo (*Pseudopus ápodo*) (Hamilton, 2022) e incluso en especies de tortugas tales como la Tortuga Arrau (*Podocnemis expansiva*) (Hamilton, 2022). La diversidad de comportamientos tiene el potencial de ser una medida útil de bienestar, pero se necesita más investigación para determinar si es un indicador significativo de bienestar cuando la inactividad abarca una gran parte de la vida de un animal (Hamilton, 2022).

Otro elemento a considerar, particularmente cuando se investigan aspectos relacionados con los efectos de los visitantes sobre los individuos, es el uso de espacios cubiertos u ocultos (Hamilton, 2022). La oportunidad de alejarse de situaciones que causan estrés mediante la utilización de un refugio o una barrera visual es fundamental para el bienestar de los reptiles, por lo cual también sería importante analizar la relación entre los usos de distintos microhábitats y la presencia de visitantes en futuras investigaciones. Los individuos bajo estudio disponen de estos espacios dentro del recinto e incluso, el propio sustrato y la vegetación presente dentro del mismo permite que los individuos elijan también sitios naturales para ocultarse.

### **Análisis hematológico**

En base a los valores hematológicos de la serie roja (eritrocitos) obtenidos en nuestro estudio, se observó que estuvieron dentro de los valores de referencia descriptos por Troiano y Silva (1998), pero fueron superiores a los descriptos por Pedrozo y col. (2016) (Tabla 10), ambos estudios realizados en cautiverio. Estos valores de eritrocitos por mm<sup>3</sup> de sangre se encuentran entre los descriptos para otras especies de testudines en cautiverio (Romero-Mera y López-Flores, 2023; Cabrera y col., 2011; Muro y col., 1994) y a los considerados

normales para este grupo (Troiano y Silva, 1998). Las variaciones respecto a los valores obtenidos por Pedrozo y col. (2016) pueden deberse, principalmente, a diferencias ambientales entre los sitios de estudio, como a la estacionalidad y a su relación con los periodos tróficos y de brumación. (Troiano y Silva, 1998; Silvestre y col., 2011). Cabe destacar que, diferencias en la alimentación y la adaptabilidad al recinto en el cual se encuentran también pueden afectar el número de glóbulos rojos y otros componentes sanguíneos (Troiano y Silva, 1998). Por lo cual, en función de los valores de eritrocitos obtenidos, podemos decir que los individuos bajo estudio se encuentran bien adaptados al entorno en el cual se encuentran y presentan una correcta alimentación y bajos niveles de estrés (Silvestre y col., 2011).

En cuanto a los valores de la serie blanca obtenidos, fueron bastante inferiores a los reportados para esta especie por Troiano y Silva (1998) e incluso inferiores a los obtenidos por Pedrozo y col. (2016) (Tabla 10), sin embargo, se encuentran entre los valores reportados para tortugas terrestres en general, en las cuales se considera valores normales 2000 y 18000 cel./mm<sup>3</sup> (Silvestre y col., 2011). Existen múltiples causas que pueden explicar la variación de los leucocitos totales entre las que pueden nombrarse la edad de los individuos, actividad muscular, el recinto en el cual se encuentran alojados y factores de estrés (Cabrera y col., 2011). Otro factor que puede haber influido en los recuentos de leucocitos totales es la diferencia de los diluyentes usados entre los distintos estudios, solución de Türk en nuestro trabajo, suero Ringer con lactato en Pedrozo y col.(2016) y solución de Natt y Herrick descrita en múltiples trabajos (Troiano y Silva, 1998; Cabrera y col., 2011).

Tabla 10: Valores hematológicos de *Chelonoidis chilensis* obtenidos por Troiano y Silva (1998), Pedrozo y col. (2016) y en nuestro estudio.

Troiano y Silva (1998)		Pedrozo y col. (2016)		Lunardi (2024)	
Eritrocitos/mm <sup>3</sup>	<700000	Eritrocitos/mm <sup>3</sup>	310000	Eritrocitos/mm <sup>3</sup>	654773
Leucocitos/mm <sup>3</sup>	11000	Leucocitos/mm <sup>3</sup>	5329	Leucocitos/mm <sup>3</sup>	2205

En relación a los conteos diferenciales de cada tipo celular obtenidos a partir de los frotis, se pudo observar que difirieron en algunas de las proporciones reportadas por Troiano y Silva (1998) y Pedrozo y col. (2016) (Tabla 11) y coincidieron en otros. En el caso de los heterófilos, célula equivalente al neutrófilo de los mamíferos y cuyos incrementos significativos se asocian a enfermedades inflamatorias o exceso de glucocorticoides (estrés), estos representaron un

25% en nuestra muestra vs. 26 a 28% reportado por Troiano y Silva (1998), por lo cual se encuentran dentro de los parámetros de referencia descritos por este autor para *C. chilensis*. Cabe destacar que, en reptiles sanos en general, el número de heterófilos en el leucograma varía con la especie, pudiendo representar hasta más del 40% del recuento diferencial en algunas de ellas (Martinez Silvestre y col., 2011). Estos datos también nos estarían informando que nuestra población en estudio no se encuentra bajo niveles de estrés y presenta un cierto nivel de bienestar.

Nuestros conteos de basófilos también reportan niveles cercanos a los valores de referencia descritos por Troiano y Silva (1998), y a los reportados por Pedrozo y col. (2016) (3% en nuestro estudio). Incrementos sustanciales en este grupo celular se ha visto relacionado con la presencia de infecciones parasitarias, sin embargo, en algunas especies de quelonios suele ser frecuente hallar valores altos de basófilos (Martinez Silvestre y col., 2011).

Tabla 11: Proporciones leucocitarias diferenciales de *Chelonoidis chilensis* reportadas por Troiano y Silva (1998), Pedrozo y col. (2016) y de nuestro estudio.

Troiano y Silva (1998)		Pedrozo y col. (2016)		Lunardi (2024)	
Tipo Celular	%	Tipo Celular	%	Tipo Celular	%
Eosinofilos	32	Eosinofilos	5	Eosinofilos	0,41
Azurofilos	8	Azurofilos	-	Azurofilos	0,86
Monocitos	4	Monocitos	2	Monocitos	1,50
Basofilos	1	Basofilos	1	Basofilos	3,17
Heterofilos	29	Heterofilos	66	Heterofilos	26,16
Linfocitos	25	Linfocitos	26	Linfocitos	67,91

En relación al resto de células de la fórmula leucocitaria, se obtuvo que nuestra población presenta un bajo porcentaje de eosinófilos (<1%), en contraposición a los expuesto por Troiano y Silva (1998) e incluso valores inferiores a lo reportado por Pedrozo y col. (2016) para esta misma especie y Cabrera y col. (2011) para *C. denticulata*. La disminución del número de eosinófilos suele estar relacionada a la estivación, por lo cual la época de muestreo en la que se realizó nuestro estudio (al inicio del periodo trófico, en verano) puede haber afectado a nuestros valores.

En general se obtuvieron valores altos de linfocitos, superando lo expuesto por ambos estudios realizados para esta especie (Troiano y Silva, 1998 y Pedrozo y col., 2016) y

asemejándose más a valores obtenidos para *C. denticulata* (Cabrera y col. 2011). Si bien su función está asociada a la respuesta inmunológica, muchas especies de reptiles sanos tienen un recuento mayor de linfocitos que de heterófilos pudiendo superar el 80% del recuento diferencial en algunas especies (Silvestre y col., 2011). Su variación parece estar relacionada principalmente con el sexo, el estado nutricional y la estación del año (Silvestre y col., 2011). Sin embargo, su aumento, se ha visto relacionado a la edad en algunas especies de tortugas (Kakizoe y col., 2007) lo que podría explicar nuestros altos valores debido a la conformación etaria de nuestra población (90,9% de adultos) (Figura 13).

Como expone Davis (2004, 2008) la fórmula leucocitaria puede verse afectada por situaciones de estrés, tanto fisiológico como ambiental, debido a la acción de hormonas glucocorticoides suprarrenales como el cortisol. El análisis del índice H/L (Heterófilos/Linfocitos) dio como resultado un valor promedio de 0,42. Este índice no había sido medido anteriormente para *C. chilensis*, sin embargo, McKee y col. (2022) analizó las variaciones de este índice para una población de *Gopherus polyphemus* posterior a una situación de estrés (captura por medio de trampas) obteniendo valores de este índice superiores a 1,0 y comparó sus resultados con otro autores (Goessling y Mendoça, 2021) que utilizaban situaciones de captura menos estresantes (captura manual) donde los valores obtenidos fueron cercanos e inferiores a 1,0 denotando que las situaciones de estrés producen modificaciones en éste índice. Si bien son escasos los estudios que han hecho uso de éste índice en tortugas (Hunt y col., 2019; Goessling y Mendoça, 2021; McKee y col. 2022) e incluso en reptiles en general (Davis, 2008; Seddon y Klukowski, 2012; Fasola y col., 2022), no se presenta ningún valor de referencia tanto para ésta como para otras especies, por lo cual, debido al nivel de bienestar de nuestra población denotado por el resto de las medidas evaluadas, estos resultados podrían servir de referencia para otros estudios en cautividad y silvestría. Sin embargo, se necesitaría analizar los valores de este índice en una población de esta misma especie en libertad para poseer valores control con los cuales comparar nuestros resultados y poder validar este método como alternativa para denotar estrés.

## Conclusiones

La población de tortuga terrestre (*Chelonoidis chilensis*) alojada en el Centro para la Rehabilitación de la Fauna Silvestre “Faunístico”, se encuentran bajo condiciones de relativo bienestar animal a partir del análisis de los patrones de uso del espacio, comportamentales y los parámetros hematológicos estudiados. Cabe destacar que este es el primer estudio realizado en tortugas terrestres en cautiverio que incluye no solo variables comportamentales, sino también datos de uso de hábitat, efecto de los visitantes y parámetros hematológicos para la provincia de San Juan.

A modo de síntesis se concluye que:

- La población de tortugas establecida en el Centro Faunístico está principalmente compuesta por adultos y no presentan diferencias morfométricas significativas entre ambos sexos.
- Los individuos de *Chelonoidis chilensis* realizan un uso heterogéneo del espacio dentro del recinto (lo cual muestra cierto nivel de bienestar), utilizando determinados microhábitats, seleccionados en función de la hora del día, temperatura, cobertura vegetal (entre otras características), de entre todos los que presenta el recinto, por lo cual se puede denotar que el recinto donde se encuentran alojadas está correctamente enriquecido y ofrece diferentes recursos y condiciones, permitiéndoles así un mayor nivel de bienestar.
- Esta especie, durante el periodo trófico, presenta cortos periodos de actividad y muestra un ritmo de actividad unimodal, dependiente de la temperatura.
- Existió una asociación entre la presencia de visitantes y el repertorio comportamental expresado por los individuos. Sin embargo, se necesitaría mayor información para determinar el carácter de este efecto (positivo o negativo).
- Los valores hematológicos de *C. chilensis* permitieron constatar un cierto nivel de bienestar debido a una proporción normal de heterófilos (célula sanguínea asociada principalmente al estrés) y valores de eritrocitos dentro de los niveles de referencia reportados para la especie.

- La evaluación de índices leucocíticos permitió obtener por primera vez valores de referencia del índice H/L para esta especie de tortugas en cautiverio, sin embargo, se requerirían datos control de una población silvestre para poder validar la utilización de esta técnica como alternativa para la evaluación del estrés en tortugas.

## Sugerencias o recomendaciones

En base a lo observado durante nuestro estudio se plantearon ciertas sugerencias tanto de modificación del recinto como de manejo de la especie. Algunas de ellas son:

- Aumentar el número de refugios priorizando que las entradas a estos no estén en dirección a los visitantes sino de manera lateral, para permitirle ocultarse a los individuos que se encuentran en el recinto.
- Incluir barreras visuales, ya sea naturales (Arbustos, Plantas trepadoras, etc.) como artificiales (Paneles acrílicos, Tela Media sombra, etc.) para minimizar la influencia de los visitantes sobre los individuos.
- Agregar al menos un bebedero más en la parte más distal del recinto con el fin de garantizar acceso al agua a todos los individuos.
- Ampliar la superficie del recinto con el fin de evitar la sobrepoblación y los problemas que pueden derivar de esta.
- Modificar los horarios de limpieza del recinto para evitar alterar los comportamientos naturales de los individuos.
- Modificar el cronograma y horarios de alimentación con el fin de aleatorizar la ocurrencia del mismo y evitar la asociación comportamental o fenómenos de impronta.
- Realizar controles rutinarios de peso y medidas de los individuos, al menos previo al inicio del periodo trófico (Septiembre/Octubre) y antes de su finalización (Marzo/Abril).

## Bibliografía

- Abdel-Rachied, H. G., Zaahkouk, S. A., EL-Zawhry, E. I. y Elfeky, K. S. (2014). Flying or running stress effect on some hematological and biochemical parameters in some birds and mammals. *J. Entomol. Zool. Stud*, 2, 153-158.
- Acosta, J. C., Laspiur A., Blanco, G. M. y Villavicencio, H. J. (2016). Diversity and conservation of amphibians and reptiles of San Juan. Universidad Nacional de San Juan; 215-235.
- Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*, 49: 227-266.
- Andreani, G., Carpenè, E., Cannavacciuolo, A., Di Girolamo, N., Ferlizza, E. y Isani, G. (2014), Reference values for hematology and plasma biochemistry variables, and protein electrophoresis of healthy Hermann's tortoises (*Testudo hermanni ssp.*). *Vet Clin Pathol*, 43: 573-583. <https://doi.org/10.1111/vcp.12203>
- Arnemo Jon. M. y Caulkett N. (2007) Stress. West, Heard, Caulkett. *Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*. Blackwell Publishing; 103-109.
- Barongi, R., Fiskén, F. A., Parker, M. y Gusset, M. (eds). (2015). *Comprometiéndose con la Conservación: La Estrategia Mundial de los Zoológicos y Acuarios para la Conservación*. Gland: Oficina ejecutiva de WAZA, 69 pp.
- Baschetto, Fidel. (2000). *Repensando los zoológicos de Argentina. Manifiesto*. Argentina: Dunken.
- Becerra, S. (2021). Evaluación de caza furtiva y tráfico ilegal como medida indirecta del uso del recurso fauna en la provincia de San Juan [Título profesional, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Universidad Nacional de San Juan]
- Begon, M., L. J. Harper y Townsend C. R. (1997). *Ecología. Individuos, poblaciones y comunidades*. Ediciones Omega, S.A. 886pp.
- Benn, A. L., McLelland D. J. y Whittaker A. L. (2019). "A Review of Welfare Assessment Methods in Reptiles, and Preliminary Application of the Welfare Quality® Protocol to

the Pygmy Blue-Tongue Skink, *Tiliqua adelaidensis*, Using Animal-Based Measures” *Animals* 9, no. 1: 27. <https://doi.org/10.3390/ani9010027>

- Bennett, E. L. y Robinson, J. G. (2000). *Hunting of Wildlife in Tropical Forests. Implications for Biodiversity and Forest Peoples*. Environment Department Papers, 76: Biodiversity Series – Impact Studies. World Bank, Washington, D.C. 42pp.
- Bernal, W. D. (2013). Tráfico ilegal de flora y fauna: El problema de la diversidad de normas y regulaciones en nuestro país y la disyuntiva con la falta de penas más severas.
- Bertolero, A. (2005). An assessment of the reliability of growth rings counts for age determination in the Hermann’s Tortoise *Testudo hermanni*. *Amphibia-Reptilia*, 26(1), 17–23. <https://doi.org/10.1163/1568538053693198>
- Boycott, R. C. y Bourquin, O. (2000). *The southern African tortoise book: A guide to southern African tortoises, terrapins and turtles*. ISBN: 9780620265362. Southern Book Publishers.
- Broom, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, 142(6), 524–526. doi:10.1016/0007-1935(86)90109-0
- Broom, D. M. (2016). Animal welfare: concepts, study methods and indicators. *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*, 24(3), 306–321. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.324688>
- Buteler, C. (2017). Comportamiento y uso del espacio en condiciones de cautiverio de la tortuga terrestre (*Chelonoidis chilensis*) en el Zoológico de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba.
- Cabrera, M. E. (2020). *Las tortugas de la Provincia de Buenos Aires*. Asociación Patrimonio Natural.
- Cabrera, M. R. (1998). *Las tortugas continentales de Sudamérica austral*. Argentina: M.R. Cabrera. ISBN: 9789874302212.
- Cabrera P. M., Li E.O., Gálvez C.H, Sánchez P.N. y Rojas M. G. (2011). Valores hematológicos de la tortuga motelo (*Geochelone denticulata*) mantenida en

cautiverio. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 22(2), 144-150. Retrieved March 16, 2024, from [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172011000200010&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000200010&lng=en&tlng=es).

- Cappa, F. M., Borghi, C. E. y Giannoni, S. M. (2016). Efectos de las infraestructuras lineales sobre los guanacos (*Lama guanicoe*) del Parque Provincial Ischigualasto, Valle Fértil, San Juan, Argentina.
- Caraffa, E., Bionda, C.L., Pollo, F.E., Salas, N.E. y Martino, A.L. (2013). Determinación de la frecuencia de micronúcleos en eritrocitos de *Bufo arenarum* que habitan ambientes urbanizados. Acta toxicológica Argentina, 21(2): 78-84.
- Carpenter, C. C. y Ferguson, G. W. (1977). Variation and evolution of stereotyped behavior in reptiles. Biology of the Reptilia, 7, 335-554.
- Carter, K.C., Keane, I.A.T., Clifford, L.M., Rowden, L.J., Fieschi-Méric, L. y Michaels, C.J. (2021). The Effect of Visitors on Zoo Reptile Behaviour during the COVID-19 Pandemic. J. Zool. Bot. Gard., 2, 664–676. <https://doi.org/10.3390/jzbg2040048>
- Case, B. C., Lewbart, G. A. y Doerr, P. D. (2005). The physiological and behavioral impacts of and preference for an enriched environment in the eastern box turtle (*Terrapene carolina carolina*). Applied Animal Behaviour Science, 92(4), 353-365.
- Cej, J.M. (1993). Reptiles del noroeste, nordeste y este de la Argentina: Herpetofauna de las selvas subtropicales, Puna y Pampas. Torino: Museo regionale di scienze naturali.
- Chebez, J.C. (2008). Los que se van. Problemática Ambiental: Anfibios y Reptiles. Editorial Albatros. Buenos Aires. Argentina. 215-231.
- Clark, F. (2020). What Is There to Learn in a Zoo Setting? In Zoo Animal Learning and Training (eds V.A. Melfi, N.R. Dorey and S.J. Ward). <https://doi.org/10.1002/9781118968543.ch5>

- Claver, J.A. y Quaglia, A.I. (2009). Comparative morphology, development, and function of blood cells in nonmammalian vertebrates. *Journal of exotic pet medicine*, 18(2), 87-97.
- Dalberg (2012). *Fighting illicit wildlife trafficking: a consultation with governments*. WWF, Gland, Switzerland.
- Davis A.K. (2005). Effect of handling time and repeated sampling on avian white blood cell counts. *Journal of Field Ornithology* 76(4), 334-338, (1 October 2005). <https://doi.org/10.1648/0273-8570-76.4.334>
- Davis, A. K., Cook, K. C. y Altizer, S. (2004). Leukocyte Profiles in Wild House Finches with and without Mycoplasmal Conjunctivitis, a Recently Emerged Bacterial Disease. *EcoHealth*, 1(4), 362–373. doi:10.1007/s10393-004-0134-2
- Davis, A.K., Maney, D.L. y Maerz, J.C. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22: 760-772.
- Davis, A. K. y Golladay, C. (2019). A survey of leukocyte profiles of red-backed salamanders from Mountain Lake, Virginia, and associations with host parasite types. *Comparative Clinical Pathology*. doi:10.1007/s00580-019-03015-9
- Delignette-Muller M.L. y Dutang C. (2015). Fitdistrplus: An R Package for Fitting Distributions. *Journal of Statistical Software*, 64(4), 1-34. DOI 10.18637/jss.v064.i04.
- DeNardo, D. (2005). Stress in Captive Reptiles. In *Reptile Medicine and Surgery, Second Edition* (pp. 119-123). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-72-169327-X/50013-4>
- Douglass, J.F. y Layne, J.N. (1978). Activity and thermoregulation of the gopher tortoise (*Gopherus polyphemus*) in southern Florida. *Herpetologica*, 34(4), 359-374.
- Duda J.J., Krzysik A.J. y Freilich J.E. (1999). Effects of drought on desert tortoise movement and activity. *Journal of Wildlife Management* 63: 1181-1192.
- Eliason, S. L. (1999). The illegal taking of wildlife: Toward a theoretical understanding of poaching. *Human Dimensions of Wildlife*, 4(2), 27–39. <https://doi.org/10.1080/10871209909359149>.

- Fasola, E., Biaggini, M., Ortiz-Santaliestra, M. E., Costa, S., Santos, B., Lopes, I., y Corti, C. (2022). Assessing stress response in lizards from agroecosystems with different management practices. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-8.
- Freiberg, M.A. (1973). Dos nuevas tortugas terrestres de Argentina. *Boletín de la Sociedad Biológica de Concepción* 46: 81-93.
- Figueres, J. (2015). Estudio sanitario de las tortugas terrestres mediterráneas (género *Testudo*) e implicaciones para su conservación. Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Fraser D., Weary D. M., Pajor E. A. y Milligan B. N. (1997). A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. *Animal Welfare* 6: 187-205.
- Fritz, U., Alcalde, L., Vargas Ramírez, M., Goode, E.V., Fabius-Turoblin, D.U. y Praschag, P. (2012). Northern genetic richness and southern purity, but just one species in the *Chelonoidis chilensis* complex. *Zoological Scripta*, 41: 220-232.
- Gavin, M. C., Solomon, J. N. y Blank, S. G. (2010). Measuring and Monitoring Illegal Use of Natural Resources. *Conservation Biology*, 24(1), 89–100. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2009.01387.x>.
- Germano, D. J. (2014). Activity, Growth, Reproduction, and Population Structure of Desert Box Turtles (*Terrapene ornata luteola*) at the Northern Edge of the Chihuahuan Desert. *Chelonian Conservation and Biology*, 13(1), 56–64. doi:10.2744/ccb-1044.1
- Goessling, J. M., Guyer, C. y Mendonça, M. T. (2016). Seasonal Acclimation of Constitutive Immunity in Gopher Tortoises *Gopherus polyphemus*. *Physiological and Biochemical Zoology*, 89(6), 487–497. doi:10.1086/688694
- Goessling, J.M. y Mendonça, M.T. (2021). Physiological responses of gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*) to trapping. *Conservation Physiology*, 9(1), coab003; doi:10.1093/conphys/coab003.

- González Rivas, C. (2009). La veterinaria y el manejo de la fauna en cautiverio. Tesis de grado. Unidad ejecutora: Seminario de orientación profesional. Universidad Nacional de la Rioja.
- Gutierrez, A. (2015). Evaluación de diferentes condiciones de mantenimiento en cautiverio de *Ambystoma ordinarium* usando un índice hematológico de medición de estrés. [Título profesional, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás De Hidalgo]
- Hailey, A. y Coulson, I.M. (1996), Temperature and the tropical tortoise *Kinixys spekii*: constraints on activity level and body temperature. *Journal of Zoology*, 240: 523-536. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05303.x>
- Hall, L. S., Krausman, P. R. y Morrison, M. L. (1997). The Habitat Concept and a Plea for Standard Terminology. *Wildlife Society Bulletin (1973-2006)*, 25(1), 173–182. <http://www.jstor.org/stable/3783301>
- Hamilton, J., Gartland, K.N., Jones, M., Fuller, G. (2022). Behavioral Assessment of Six Reptile Species during a Temporary Zoo Closure and Reopening. *Animals* 2022, 12, 1034. <https://doi.org/10.3390/ani12081034>
- Hunt, K.E., Innis, C., Merigo, C., Burgess, E.A., Norton, T., Davis, D., Kennedy, A.E. y Buck, C.L. (2019). Ameliorating transport-related stress in endangered Kemp’s ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*) with a recovery period in saltwater pools. *Conservation Physiology* 7(1): coy065; doi:10.1093/conphys/coy065
- IUCN. (2022). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-1. <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on 10/10/2023
- Juste de Santa-Ana y E. Carretón Gómez (2015). Fundamentos de análisis clínicos en animales de compañía. Multiméica Ediciones Veterinarias.
- Kakizoe, Y., Sakaoka, K., Kakizoe, F., Yoshii, M., Nakamura, H., Kanou, Y. y Uchida, I. (2007). Successive changes of hematologic characteristics and plasma chemistry values of juvenile loggerhead turtles (*Caretta caretta*). *Journal of zoo and wildlife medicine*:

official publication of the American Association of Zoo Veterinarians, 38(1), 77–84.  
<https://doi.org/10.1638/05-096.1>

- Kazmaier, R. T., Hellgren, E. C. y Synatzske, D. R. (2001). Patterns of behavior in the Texas tortoise, *Gopherus berlandieri*: a multivariate ordination approach. Canadian journal of zoology, 79(8), 1363-1371.
- Krausman, P. R. (1999). Some basic principles of habitat use. Grazing behavior of livestock and wildlife, 70, 85-90.
- Kenneth, E. N., Todd, C. E., Dustin, F. H. y Richard, C. T. (2007). Desert Tortoise Hibernation: Temperatures, Timing, and Environment. Copeia, 2: 378–386
- Legler, J. M. (1960). Natural history of the ornate box turtle, *Terrapene ornata* Agassiz. University of Kansas.
- Leizagoyen, C. (2005). Conservación “ex situ”: los zoológicos y la genética de la conservación. Agrociencia, 9(1-2):597-602, 2005.
- Ley Nacional 22.421. Ley nacional de Conservación de la Fauna. (12 de marzo de 1981). <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-22421-38116/texto>
- Liddick, D. R. (2011). Crimes against nature. Illegal industries and the global environment. Oxford: Praeger Publishers.
- Lowell, A. (1998). Diagnostics procedures: hematology. En: Ackerman L (ed). The biology, husbandry and health care of reptiles. Vol III. USA: TFH Publications. p 703-713.
- Liu, Y. X., Wang, J., Shi, H. T., Murphy, R. W., Hong, M. L., He, B. y Fu, L. R. (2009). Ethogram of *Sacalia quadriocellata* (Reptilia: Testudines: Geoemydidae) in captivity. Journal of Herpetology, 43(2), 318-325.
- Manly, B. J.; McDonald, L. L., Thomas, D. L., McDonald, T. L. y Erickson, P. W. (2002). Resource selection by animals: statistical design and analysis for field studies. Segunda edición. Moscú, Russia.

- Manteca, X. y Salas, M. (2015). Concepto de bienestar animal. Ficha técnica sobre bienestar en animales de zoológico. Zoo Animal Welfare Education Centre.
- Martínez Quintanilla, M. C., Torres Bugarín, O., Martínez Guerrero, J. H., Delgado León, T. G., Salas Pacheco, J. M. y Pereda Solís, M. E. (2017). Relación heterófilo/linfocito, frecuencia espontánea de eritrocitos micronucleados y prolongaciones nucleares en el ganso nevado (*Chen caerulescens*): Una propuesta como posible biomonitor de estrés y genotóxicos ambientales. *Huitzil*, 18(1), 102-111. Recuperado en 16 de marzo de 2024, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-74592017000100102&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-74592017000100102&lng=es&tlng=es).
- McKee, R. K., Buhlmann, K. A., Moore, C. T., Allender, M. C., Stacy, N. I. y Tuberville, T.D. (2022). Island of misfit tortoises: waif gopher tortoise health assessment following translocation. *Conservation Physiology* 10(1): coac051; doi:10.1093/conphys/coac051.
- McMaster, M. K. y Downs, C. T. (2013). Seasonal and daily activity patterns of leopard tortoises (*Stigmochelys pardalis* Bell, 1828) on farmland in the Nama-Karoo, South Africa, *African Zoology*, 48:1, 72-83, DOI: 10.1080/15627020.2013.11407570
- Mueller-Paul, J., Wilkinson, A., Hall, G. y Huber, L. (2012). Radial-arm-maze behavior of the red-footed tortoise (*Geochelone carbonaria*). *Journal of Comparative Psychology*, 126(3), 305–317. <https://doi.org/10.1037/a0026881>
- Muro, J., Cuenca, R., Viñas, L. y Lavin, L. (1994). Interés del hemograma en la clínica de quelonios. *Veterinaria en Praxis*.
- Noss, A. J., Montaña, R. R. F., Soria, F., Deem, S. L., Fiorello, C. V. y Fitzgerald L. A. (2013). *Chelonid carbonaria* (Testudines: Testudinidae) activity patterns and burrow use in the Bolivian Chaco. *South american Journal of Herpetology*, 8: 19-28.
- Owens, D. W. y Ruiz, G. J. (1980). New methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica* 36: 17–20. <http://www.jstor.org/stable/3891847>

- Passos, L. F., Mello, H. E., y Young, R. J. (2014). Enriching tortoises: assessing color preference. *Journal of applied animal welfare science : JAAWS*, 17(3), 274–281. <https://doi.org/10.1080/10888705.2014.917556>
- Pedrozo Prieto, R., Vetter Hiebert, R., Quintana Ruiz Díaz, A., Fernández Gebhardt, R., y Villalba Falcón, R. (2016). Valores hematológicos y de proteína total en tortugas terrestres (*Chelonoidis chilensis*) en cautiverio en las ciudades de Asunción y San Lorenzo, Paraguay. *Compendio de Ciencias Veterinarias*, 6(2), 28-35.
- Pérez, I., Giménez, A., Anadón, J. D., Martínez, M., y Esteve Selma, M. Á. (2002). Patrones de actividad estacional y diaria de la tortuga mora (*Tetudo graeca* L. 1758 ssp. *graeca*) en el sureste de la Península Ibérica. *Anales de biología*, ISSN 1138-3399, N° 24, 2002, pags. 65-76. 24. Recuperado a partir de <https://revistas.um.es/analesbio/article/view/31311>
- Pérez-Rojas, J. (2019). Herramientas para la valoración del bienestar animal de la raya de río *Potamotrygon magdalenae*, en cautiverio. [Título profesional, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia]
- Pintos, P. (2017). Etología aplicada al Enriquecimiento y Bienestar Animal: Tortuga olivácea (*Lepidochelys olivacea*) en rehabilitación. Tesis de grado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Ciencias.
- Plowman, A. B. (2003). A note on a modification of the spread of participation index allowing for unequal zones. *Applied Animal Behaviour Science*, 83, 331-336.
- Pollo, F.E., Bionda, C.L., Salinas, Z.A., Salas, N.E. y Martino, A.L. (2015). Sapo común *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) y su importancia en la evaluación de la salud ambiental: prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en eritrocitos. *Monitoreo y evaluación ambiental*, 187 (9), 1-9.
- Prado, W. S., Waller, T., Albareda, D. A., Cabrera, M. R., Etchepare, E., Giraudo, A. R., González C. V., Prosdocimi L. y Richard, E. (2012). Categorización del estado de conservación de las tortugas de la República Argentina. *Cuadernos de herpetología*, 26(Supl. 1), 375-387.

- Quintana M., P.C., Hernández S., L.T., y Morales M., J.E. (2014). El uso del espacio en la vida animal. CONABIO. Biodiversitas, 114:8-12
- R Core Team. 2023. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Recuerda, P., Moyano, R., y Castro, F. (2003). Bienestar animal: Experimentación, producción, compañía y zoológicos. Departamento de Zoología, Servicio de animales de experimentación Universidad de Córdoba. Copisterías Don Folio SL Córdoba.
- Recuerda Serrano, P. (2003). «Bienestar animal: concepto y valoración». Libro de Resúmenes II Curso sobre Bienestar Animal: experimentación, producción, compañía y zoológicos. Curso de Extensión Universitaria. Córdoba, febrero de 2003.
- Richard, E. 1994. Espectro trófico de *Chelonoidis chilensis* (Gray) (Chelonii: Testudinidae) en la provincia fitogeográfica del Monte (Mendoza, Argentina). Cuadernos de Herpetología 8: 131-140.
- Richard, E., (1999). Tortugas de las regiones áridas de Argentina. Contribución al conocimiento de las tortugas de las regiones áridas de Argentina (*Chelidae* Y *Testudinidae*) con especial referencia a los aspectos ecoetológicos, comerciales y antropológicos de las especies del complejo chilensis (*Chelonoidis chilensis* y *C. donosobarrosi*) en la provincia de Mendoza. Literature of Latin América, Buenos Aires. Monografía Especial n0 10 (10): i-xv + 1-200, A-D + 1-53 figs., A-D + 1-11 mapas, A-C + 1-36 tabs., 1-3 apéndices. ISSN 0328-1620 (Serie Monografía Especial L.O.L.A.); ISBN 950-972533-1 (Libro individual).
- Rodríguez Almonacid, C.C., Vargas León, C.M., Moreno Torres, C.A. y Matta, N.E. (2022). Consideraciones para la obtención de sangre en tortugas: sitios de venopunción y anticoagulantes. Rev MVZ Córdoba; 27(2): e2256. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2256>
- Romero, L. M., y Reed, J. M. (2005). Collecting baseline corticosterone samples in the field: is under 3 min good enough? Comparative biochemistry and physiology. Part A,

Molecular & integrative physiology, 140(1), 73–79.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.11.004>

- Romero Mera, A. y López Flores, A. (2023). Valores hematológicos de la tortuga de pata roja en cautiverio, mediante hemogramas en la región San Martín. *Revista de Veterinaria y Zootecnia Amazónica*.
- Romito, M. L., Parachu M., M. V. y Imhof, A. (2015). Growth and reproduction of *Chelonoidis chilensis* (Reptilia, Testudinidae) in captivity; Universidad Autonoma de Entre Rios; *Scientia Interfluvius*; 6; 12-2015; 64-73. ISSN 1853-4430.
- Royer, E. A. y Anderson, M. J. (2014). Evidence of a dominance hierarchy in captive Caribbean flamingos and its relation to pair bonding and physiological measures of health. *Behavioural Processes*, 105, 60–70.  
<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2014.03.005>
- Ruete, A., y Leynaud, G.C. (2015). Identification of limiting climatic and geographical variables for the distribution of the tortoise *Chelonoidis chilensis* (Testudinidae): a baseline for conservation actions; *PeerJ, Inc.; PeerJ*; 3; e1298; 10-2015; 1-12
- Salinas, Z.A., Salas, N.E., Baraquet, M. y Martino, A.L. (2015). Biomarcadores hematológicos del sapo común *Bufo (Rhinella) arenarum* en ecosistemas alterados de la provincia de Córdoba. *Acta Toxicológica Argentina*, 23(1): 25-35.
- Sanchez, J. (2012). Variabilidad genética, distribución y estado de conservación de las poblaciones de Tortugas terrestres *Chelonoidis chilensis* (Testudines: Testudinidae) que habitan en la República Argentina. Tesis Doctoral. (Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE) CCT-CONICET La Plata – CICIPBA).
- Santos, A. T. (2018). Uso do espaço por jabutis-amarelos (*Chelonoidis denticulatus*) em uma reserva na amazônia central: Influências de características biológicas, do gradiente topográfico e da disponibilidade de recursos alimentares e clareiras.
- Seddon, R. J., y Klukowski, M. (2012). Influence of Stressor Duration on Leukocyte and Hormonal Responses in Male Southeastern Five-Lined Skinks (*Plestiodon*

inexpectatus). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 317(8), 499–510. doi:10.1002/jez.1742

- Seltmann, A., Czirjak, G. A., Courtiol, A., Bernard, H., Struebig, M. J. y Voigt, C. C. (2017). Habitat disturbance results in chronic stress and impaired health status in forest-dwelling paleotropical bats. *Conservation Physiology*, 5, 14.
- Silvestre, F. J., Salvador-Martínez, I., Bautista, D., y Silvestre-Rangil, J. (2011). Clinical study of hemodynamic changes during extraction in controlled hypertensive patients. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 16(3), e354–e358. <https://doi.org/10.4317/medoral.16.e354>
- Stazzonelli, J.C., Cabrera, P. y Scrocchi, G. (2020). Tortuga terrestre: *Chelonoidis chilensis*.
- Subsecretaría de Ambiente (2021). Tráfico ilegal de fauna: algunos datos para entender la problemática. Ministerio del Interior. <https://www.argentina.gob.ar/interior/ambiente/accion/trafico-ilegal-fauna>
- Troiano, J.C. y Silva, M.C. (1998). Valores hematológicos de referencia en tortuga terrestre argentina (*Chelonoidis chilensis chilensis*). *Analecta Veterinaria*.
- Ultsch, G. R. (1989). Ecology and physiology of hibernation and overwintering among freshwater fishes, turtles, and snakes. *Biological Reviews*, 64(4), 435–515. doi:10.1111/j.1469-185x.1989.tb00683.x
- Valdés-S., V. V. (2013). Prácticas de manejo en la conservación Ex Situ y su relación con la sostenibilidad ambiental. *Revista Tecnología En Marcha*, 21(1), pág. 152–160. Recuperado a partir de [https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec\\_marcha/article/view/1348](https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1348)
- Van Uhm, D.P. (2016). *The Illegal Wildlife Trade Inside the World of Poachers, Smugglers and Traders*. Springer International Publishing Switzerland, 328 pp.

- Varela, R. O. y Bucher, E. H. (2002). Seed dispersal by *Chelonoidis chilensis* in the Chaco dry woodland of Argentina. *Journal of Herpetology*, 36: 137-140.
- Villalobos Perna, P., (2021). Efectos del enriquecimiento ambiental sobre el comportamiento de herbívoros nativos en el Faunístico (Centro para la Conservación de Fauna Silvestre) de la provincia de San Juan. [Título profesional, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Universidad Nacional de San Juan]
- Warwick, C. (1990a). Reptilian ethology in captivity: Observations of some problems and an evaluation of their aetiology. *Applied Animal Behaviour Science*, 26 (1-2), 1-13.
- Warwick, C. (1990b). Important ethological and other considerations of the study and maintenance of reptiles in captivity. *Applied Animal Behaviour Science*, 27: 363-366.
- Wimberger, K., Armstrong, A. J. y Penning, M. (2011). Health checks of rehabilitated leopard tortoise, *Stigmochelys pardalis*, before release into the wild. *South African Journal of Wildlife Research*, 41(2), 229-235.
- Zacarias, G. G., Diaz Gomez, J. M. y de la Fuente, M. S. (2016). Biología, Ecología, Paleontología y filogenia de nuestra Tortuga chaqueña (*Chelonoidis chilensis*): Pequeño pariente de las tortugas terrestres de las islas galápagos; Instituto de Bio y Geociencias del NOA; Temas de Biología y Geología del NOA; 6; 1; 4-2016; 8-21
- Zorro Ceron, J. P. (2007). Anuros de piedemonte llanero: diversidad y preferencias de microhábitat. Trabajo final de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Pontífica Universidad Javierana, Bogotá, Colombia. 86pp.
- Zuliani, M. (2014). Termorregulación y dimorfismo sexual de la Tortuga terrestre (*Chelonoidis chilensis*), en una población del Parque Faunístico (Dpto. Rivadavia, San Juan). Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de San Juan.