

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas

**FACTORES ASOCIADOS A PARASITISMO GASTROINTESTINAL EN
GUANACOS SILVESTRES (*Lama guanicoe*).**

Pablo Gastón Moreno

Director: Dr. Pablo M. Beldomenico

Co-Director: Dr. Pablo Carmanchahi

Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral
UNL-CONICET

- 2014 -

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	9
Listado de Abreviaturas.....	12
RESUMEN.....	13
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN.....	17
Importancia de la salud y enfermedad en poblaciones silvestres	17
Estrés y sus consecuencias en la salud	17
Estrés agudo	18
Estrés crónico.....	21
Estudio de Estrés en fauna silvestre	23
Análisis de glucocorticoides fécales.....	23
Estado inmunitario en poblaciones silvestres.....	25
Anticuerpos Naturales	25
Parasitismo y sus efectos a nivel del hospedador individual.....	26
Parasitismo y sus efectos en la población de hospedadores	28
Guanaco (<i>Lama guanicoe</i>)	30
Clasificación taxonómica	30
Distribución poblacional y estatus de conservación de la especie	31

Ecología, anatomía digestiva y Comportamiento (breve descripción)	33
Análisis de Glucocorticoides en Camélidos Sudamericanos.....	35
Conocimiento del estado inmunitario de Camélidos Sudamericanos	36
Parasitismo gastrointestinal en Camélidos Sudamericanos silvestres	37
Hipótesis de trabajo	38
Objetivo General.....	39
Objetivos específicos.....	39
MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
Área de estudio	40
Obtención de muestras.....	43
Muestras fecales obtenidas a campo	43
Muestras obtenidas en esquilas	44
Obtención de suero, plasma, y materia fecal durante esquilas.....	45
Obtención de parásitos adultos del tracto gastrointestinal	46
Estudios parasitológicos	46
Búsqueda de larvas de parásitos pulmonares	46
Diagnóstico y Conteos de formas evolutivas	47
Cultivo de larvas.....	49
Identificación de huevos de helmintos	51
Identificación de ooquistes de protozoos.....	51

Identificación de Larvas 3 (L3) de nematodos	51
Identificación de nematodos adultos	52
Metabolitos de cortisol fecal (MCF)	52
Liofilización de heces	52
Extracción de hormonas de heces	53
Radioinmunoensayo - Determinación de niveles de MCF	53
Evaluación de Anticuerpos Naturales.....	54
Datos de condiciones climáticas.....	55
Análisis estadísticos.....	55
RESULTADOS	58
Muestras obtenidas	58
Muestreos fecales a campo.....	58
Muestreos en esquilas.....	59
Sangre, suero y plasma de guanacos esquilados	59
Materia fecal de guanacos esquilados	60
Tractos GI de animales de muerte reciente.....	60
Condición meteorológica en Payunia entre 2009 y 2012.....	60
Resultados parasitológicos descriptivos	61
Comunidad parasitaria de población de guanacos de La Payunia	61
Larvas de parásitos pulmonares	61

Larvas de nematodos de cultivos fecales	61
Nematodos adultos de tractos gastrointestinales	62
Formas parasitarias en diagnóstico y conteo parasitológico	62
Riqueza parasitaria de población de guanacos de La Payunia	63
Dinámicas de prevalencias e intensidades de la comunidad parasitaria GI	63
Análisis de metabolitos de cortisol fecal de guanacos	68
Análisis de MCF de heces colectadas a campo.....	68
Análisis de MCF de heces rectales colectadas en esquilas	70
Anticuerpos Naturales circulantes en guanacos	70
Análisis de factores extrínsecos e intrínsecos del hospedador como determinantes de abundancia parasitaria	71
Factores determinantes de abundancia de <i>Nematodirus</i> spp.	71
Factores determinantes de abundancia de <i>Trichuris</i> sp.....	72
Factores determinantes de abundancia de <i>Capillaria</i> sp.....	74
Factores determinantes de abundancia de huevos compatibles con <i>Strongyloides</i> sp..	75
Factores determinantes de abundancia de <i>Moniezia</i> cf. <i>benedeni</i>	75
Factores determinantes de abundancia de <i>Eimeria</i> spp.....	79
Condiciones meteorológicas y abundancia de <i>Eimeria</i> spp.....	79
Factores determinantes de abundancia de <i>Eimeria macusaniensis</i>	82
Factores determinantes de abundancia de <i>Eimeria ivitaensis</i>	82

Interacciones entre especies parásitas de guanacos como determinantes de abundancia parasitaria.....	83
Interacciones parasitarias en muestras de campo	83
Interacciones parasitarias en muestras rectales	84
Análisis de asociaciones entre niveles de MCF y abundancias parasitarias	86
Análisis de asociaciones entre niveles séricos de Anticuerpos Naturales, abundancias parasitarias, y MCF	90
DISCUSIÓN	91
CONCLUSIONES.....	100
AGRADECIMIENTOS.....	102
BIBLIOGRAFÍA	105

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Eje Hipotalámico-Pituitaria-Adrenal, respuesta de retroalimentación negativa ante un estresor agudo comparada con respuesta a estresor crónico, y los principales efectos en procesos corporales.	20
Figura 2.- Distribución histórica y actual del guanaco (<i>L. guanicoe</i>) en Sudamérica (modificado de Franklin y col., 1997).	33
Figura 3.- Grupo mixto de guanacos en sector NE de La Payunia.....	35
Figura 4.- Ubicación del área de estudio en la provincia de Mendoza, Argentina. Comprende los sectores Noreste, Noroeste y alrededores de la Reserva Provincial La Payunia (adaptado de Schroeder, 2013).	40
Figura 5.- a) Esquema de corte de vasos plásticos para realizar cultivos larvarios. b) Esquema final de los segmentos acoplados (técnica Henriksen y Korsholm 1983).	50
Figura 6.- Huevos de las especies de parásitos helmintos encontrados en heces de guanacos de La Payunia. a) <i>Nematodirus</i> spp., b) <i>Trichuris</i> sp. c) <i>Capillaria</i> sp., d) <i>Moniezia</i> cf. <i>benedeni</i> , y e) huevo compatible con <i>Strongyloides</i> sp.....	62
Figura 7.- Ooquistes de las especies de coccidios encontrados en materia fecal de guanacos de La Payunia. a) <i>Eimeria lamae</i> , b) <i>E. alpaca</i> , c) <i>E. punoensis</i> , d) <i>E. macusaniensis</i> , y e) <i>E. ivitaensis</i>	62
Figura 8.- Temperaturas promedio, mínima absoluta, y máxima absoluta estacionales de La Payunia en el período 2009 – 2012.	65
Figura 9.- Humedad promedio y precipitaciones acumuladas estacionales de La Payunia en el período 2009 – 2012.	65
Figura 10.- Dinámicas estacionales de las prevalencias de especies de helmintos que parasitan a guanacos de La Payunia.	65

Figura 11.- Dinámicas estacionales de prevalencias de coccidios en guanacos silvestres de La Payunia.	65
Figura 12.- Dinámicas estacionales de la intensidad media (HPG) de las especies de helmintos que parasitan a guanacos de La Payunia.....	73
Figura 13.- Dinámicas estacionales de la intensidad media (OPG) de <i>Eimeria</i> spp. y <i>E. macusaniensis</i> en guanacos de La Payunia.	73
Figura 14.- Dinámicas estacionales de intensidad media de <i>Moniezia</i> cf. <i>benedeni</i> y de <i>E. ivitaensis</i> en guanacos de La Payunia.	73
Figura 15.- Dinámica estacional de niveles promedio de MCF (ng/g), límites inferior y superior de intervalos de confianza de 95%.	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Respuestas fisiológicas y comportamentales durante estrés agudo y crónico. Modificado de Dickens y col. (2010).	22
Tabla 2.- Esquema de períodos y estaciones representadas en los muestreos de campo y de esquilas, con el número total de muestras obtenidas (n=763).	58
Tabla 3.- Prevalencias estacionales de helmintos de guanacos de la Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).	66
Tabla 4.- Prevalencias estacionales de coccidios de guanacos de la Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).	67
Tabla 5.- Niveles promedio de MCF (ng/g) por estación de muestreo, y límites inferior y superior de intervalos de confianza de 95%.	69
Tabla 6.- Modelo lineal mixto que describe la variación estacional de los niveles de metabolitos de cortisol fecal (ng/g) (N=711).	70
Tabla 7.- Modelo lineal generalizado mixto que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de Nematodirus spp. por gramo (HPG) de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).	72
Tabla 8.- Modelo lineal generalizado que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de Trichuris sp. por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).	74
Tabla 9.- Modelo lineal generalizado mixto que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de Capillaria sp. por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).	75
Tabla 10.- Modelo lineal generalizado que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de Moniezia cf. benedeni por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).	76

Tabla 11.- Intensidad media (media geométrica) estacional de helmintos de guanacos de La Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).	77
Tabla 12.- Intensidad media (media geométrica) estacional de coccidios de guanacos de La Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).	78
Tabla 13.- Modelo lineal generalizado mixto que muestra los factores asociados con los conteos de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. por gramo (OPG) de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).	80
Tabla 14.- Modelo lineal generalizado que describe la relación entre variables climáticas con abundancia de <i>Eimeria</i> spp. (OPG) (N=756).	81
Tabla 15.- Modelo lineal generalizado que muestra los factores asociados con los conteos de ooquistes de <i>Eimeria macusaniensis</i> por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).	82
Tabla 16.- Resumen de asociaciones observadas entre parásitos gastrointestinales de guanacos silvestres.	83
Tabla 17.- Modelos Lineales Generalizados mostrando los factores asociados con conteos de OPG de <i>Eimeria macusaniensis</i> y <i>Eimeria</i> spp., y conteos de HPG de <i>Nematodirus</i> spp. de muestras rectales de guanacos silvestres esquilados (N=74).	85
Tabla 18.- Modelo lineal mixto que describe la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período y abundancia (HPG) de <i>Nematodirus</i> spp. (N= 711). .	86
Tabla 19.- Modelos lineales mixtos que describen la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período y abundancia (OPG) de <i>Eimeria</i> spp. y <i>E. macusaniensis</i> (N= 711).	87
Tabla 20.- Modelos lineales mixtos que describen la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período, edad y abundancia (HPG) de <i>Trichuris</i> sp. y <i>Capillaria</i> sp. (N= 711).	88

Tabla 21.- Modelos lineales mixtos que describen la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período, edad y abundancia (OPG/HPG) de *Moniezia cf. benedeni* y *Eimeria ivitaensis* (N= 711)..... 89

Tabla 22.- Modelos lineales que describen la relación entre niveles séricos de Anticuerpos Naturales, con sexo, edad y abundancia parasitaria (OPG/HPG) de todas las especies encontradas (N= 54). 90

Listado de Abreviaturas

ACTH = Hormona adrenocorticotrofina.

AN = Anticuerpos naturales.

AVP = Hormona Arginina Vasopresina.

CITES = Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies Amenazadas de Fauna y Flora.

CRH = Hormona liberadora de corticotropina.

CS = Camélidos Sudamericanos.

DE = Desvío Estándar

EDTA = Ácido Etilendiaminotetraacético (anticoagulante).

GC = Glucocorticoides.

GI = Gastrointestinal.

GLM = Modelo Lineal Generalizado.

GLMM = Modelo Lineal Mixto Generalizado.

HPA = eje Hipotálamo-Pituitaria-Adrenal.

HPG = conteo de huevos de parásitos helmintos, por gramo de materia fecal.

Ig = Inmunoglobulina

L1 = Larva de nematode de primer estadio.

L3 = Larva de nematode de tercer estadio.

MO= Microscopio óptico.

MCF = Metabolitos de cortisol Fecal.

MLM = Modelo Lineal Mixto.

NE = Noreste.

NO = Noroeste.

OPG = conteo de ooquistes de parásitos protozoarios, por gramo de materia fecal.

PBS = Solución Buffer Fosfato Salino.

RIA = Radio-inmuno-ensayo (“Radioimmunoassay”, por sus siglas en inglés).

UICN = Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.

RESUMEN

Factores asociados a parasitismo gastrointestinal en guanacos silvestres (*Lama guanicoe*)

Recientes investigaciones han demostrado que el estado general de salud en animales silvestres es crucial para modular las dinámicas de infección de las enfermedades, ya que existe un sinergismo entre la condición fisiológica, el sistema inmunológico de un individuo y su susceptibilidad para contraer infecciones o infestaciones. A su vez, la fauna silvestre se encuentra expuesta a diferentes estímulos, naturales y antrópicos, que desencadenan respuestas de estrés secretando glucocorticoides que, a largo plazo, deprimen al sistema inmunitario. Las enfermedades parasitarias tienen un gran impacto en las dinámicas poblacionales de algunas especies silvestres, por lo que pueden representar una amenaza considerable para la biodiversidad. La meta de esta tesis fue investigar los factores determinantes de abundancia parasitaria en guanacos silvestres (*Lama guanicoe*) de la Reserva La Payunia, provincia de Mendoza, Argentina. Para ello se identificaron a las especies que componen la comunidad parasitaria gastrointestinal de esta población de guanacos, y se investigaron las asociaciones entre abundancia parasitaria y los factores tradicionalmente considerados como determinantes de abundancia, extrínsecos (estación climática, condiciones meteorológicas) e intrínsecos (sexo, edad, condición corporal, tipo y tamaño de grupo social) del hospedador. A su vez, se analizaron asociaciones entre carga parasitaria y niveles de metabolitos de cortisol fecal (como indicador de estrés); y entre niveles séricos de anticuerpos naturales (componentes de inmunidad innata) de guanacos esquilados con su carga parasitaria. La comunidad parasitaria se estudió identificando las formas evolutivas eliminadas en heces (huevos de helmintos y ooquistes de protozoos), por identificación de nematodos adultos de tracto intestinal de guanacos muertos, por identificación de larvas de cultivos fecales, e identificando ooquistes luego de esporulación. La abundancia parasitaria se estimó por conteos de huevos y ooquistes fecales aplicando la técnica de Wisconsin modificada. Los niveles de metabolitos de cortisol fecal se determinaron por radioinmunoensayo y los niveles de anticuerpos naturales con una técnica de hemaglutinación. Los análisis estadísticos se realizaron con modelos multivariados. Se encontró una riqueza de 11 especies parásitas, siendo *Nematodirus* spp., *Eimeria lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, y *E. macusaniensis* las de

mayor prevalencia e intensidad. *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Moniezia* cf. *benedeni*, huevos compatibles con *Strongyloides* sp., y *Eimeria* *ivitaensis* completaron el ensamble de esta comunidad parasitaria. Las abundancias parasitarias estuvieron influenciadas por algunas de las variables extrínsecas (año, estación, condiciones climáticas, sector geográfico) e intrínsecas de los individuos (sexo, edad, tamaño de grupo) consideradas tradicionalmente, y también por algunas interacciones interespecíficas entre parásitos. Los niveles de metabolitos de cortisol fecal y de anticuerpos naturales no tuvieron impacto en la abundancia parasitaria. No se encontraron asociaciones entre los niveles de anticuerpos naturales y los niveles de metabolitos de cortisol fecal. *Nematodirus* spp., *Strongyloides* sp. y *Moniezia benedeni* son parásitos propios de rumiantes domésticos y su presencia refleja la susceptibilidad del guanaco, por lo que se recomienda realizar monitoreos parasitológicos periódicos, a fin de poder anticiparse ante incrementos importantes en este tipo de parasitismo en los guanacos silvestres. Esta tesis pone de manifiesto la importancia de considerar los múltiples factores que influyen en las dinámicas parasitarias en poblaciones silvestres, teniendo en cuenta que interactúan estableciendo una intrincada red de causalidad.

ABSTRACT

Factors associated to gastrointestinal parasitism in wild guanacos (*Lama guanicoe*)

Recent studies have shown the importance of the health status of wild animals to modulate the dynamics of disease infection, due to a synergism between physiological condition, immune system and susceptibility to acquire infections or infestations. In turn, wildlife is exposed to different stimuli, natural or anthropic, that elicit stress responses secreting glucocorticoids that suppress the immune system in the long term. Parasitic diseases have a major impact on the population dynamics of some wild species, and may therefore pose a significant threat to biodiversity. The objective of this work was to investigate the driving factors of parasite abundance in wild guanacos (*Lama guanicoe*) from La Payunia Reserve, Mendoza Province, Argentina. To do this, the species comprising the gastrointestinal parasite community of guanacos were identified; and associations between parasite abundance and the traditionally considered driving factors, extrinsic (season, weather conditions) and intrinsic (sex, body condition score, type and group size) of the host were assessed. In turn, the associations between parasitic load and levels of fecal cortisol metabolites (as an indicator of stress), and those between serum natural antibody levels (as innate immunity components) of sheared guanaco with their parasite load were analyzed. The parasite community was studied by identifying immature stages (eggs in helminths and oocysts in protozoa) shed in feces, by identifying adult nematods of gastrointestinal tracts of dead guanacos, larvae from fecal culture, and oocysts after sporulation. Parasite abundance was studied counting fecal eggs and oocysts applying a modified Wisconsin technique. The metabolites of fecal cortisol were assessed by radioimmunoassay, and natural antibody titers were analyzed using a hemagglutination technique. Statistical analyses were made with multivariable models. A richness of 11 parasite species was found, including *Nematodirus* spp., *Eimeria lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, and *E. macusaniensis*; whose prevalences and intensities were the highest. *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Moniezia* cf. *benedeni*, eggs similar to *Strongyloides* sp., and *Eimeria ivitaensis* completed the assembly of this parasitic community. Parasitic abundances were influenced by some of the extrinsic (year, season, weather conditions) and intrinsic factors of the host individuals (sex, age, group size) traditionally considered, and also by some interspecific interactions between parasites. The levels of fecal cortisol

metabolites and natural antibody titers did not affect parasite abundance. Natural antibody titers were not associated to fecal cortisol metabolites levels. *Nematodirus* spp., *Strongyloides* sp., and the detected species of *Moniezia* are typical parasites of livestock, and their presence reflects the guanaco susceptibility to be parasitized by them. We suggest conducting parasitological surveys periodically to be able to anticipate to an important rise in this type of parasitism in wild guanacos. This work emphasizes the importance of assessing multiple factors that may affect parasite dynamics in wild populations.

INTRODUCCIÓN

Importancia de la salud y enfermedad en poblaciones silvestres

Recientes investigaciones han demostrado que el estado general de salud en animales silvestres es crucial para modular las dinámicas de infección de las enfermedades, ya que existe un sinergismo entre la condición fisiológica general e inmunológica de un individuo y su susceptibilidad a infecciones o infestaciones (Beldomenico y Begon, 2010). La enfermedad en poblaciones de animales silvestres ha sido definida como cualquier condición que modifique o interfiera en el desarrollo de sus funciones normales; e incluye entre las distintas causas de enfermedad a respuestas a factores ambientales, toxinas, agentes infecciosos y parasitarios, defectos congénitos o adquiridos, o combinaciones de estos factores (Wobeser, 2007). A su vez, las enfermedades parasitarias tienen un gran impacto en las dinámicas poblacionales de algunas especies silvestres (Hudson y col., 1998; Tompkins y Begon, 1999), por lo que pueden representar una amenaza considerable para la biodiversidad (Pedersen y Greives, 2008; Smith y col., 2009). Al estudiar cualquier fenómeno de enfermedad en fauna silvestre es necesario identificar sus características particulares, se debe responder preguntas sobre características poblacionales de los animales afectados (¿a quién?), de ubicación y factores ambientales asociados con la enfermedad (¿dónde?), distribución temporal de la enfermedad (¿cuándo?), rasgos clínicos y patológicos de la enfermedad y su agente causal (¿qué?), y de la patogénesis (¿por qué?) (Wobeser, 2007).

Estrés y sus consecuencias en la salud

Cuando un individuo percibe estímulos ambientales o sociales que alteran su homeostasis, se desencadena una respuesta compuesta por cambios adaptativos fisiológicos y comportamentales (Dickens y col., 2010), conocidos como estrés. El estrés puede causar vulnerabilidad a un gran número de individuos de una población, y los parásitos endémicos (tolerados en otras circunstancias) podrían comenzar a ser una amenaza para la salud de la fauna silvestre. El círculo vicioso puede transformarse entonces en un espiral vicioso, tendiendo a la disminución poblacional.

Los factores desencadenantes de procesos de estrés se pueden clasificar como estresores naturales o de origen antrópico. Los factores de origen natural son las

temperaturas extremas (Bubenik y col., 1983; Saltz y White, 1991; Nelson y Demas, 1996; Romero y Remage-Healey, 2000; Michael Romero, 2002; Huber y col., 2003), cambios en la disponibilidad de alimento (Wofford y col., 1985) y agua (Alamer, 2006); e interacciones intraespecíficas e interespecíficas (Sapolsky, 1982, 1983; Creel y col., 1996, 1997; Caro, 1998; Creel, 2001; Boonstra, 2004). Entre las fuentes de estrés antropogénico se consideran a las actividades de extracción de recursos mineros o petroleros, alteración del hábitat, caza, turismo, competencia por alimento con ganado doméstico (Patz y col., 2000; Millspaugh y col., 2001; Baltic y col., 2005; Acevedo-Whitehouse y col., 2009), traslados o reintroducciones (Millspaugh y col., 2001; Teixeira y col., 2007), y captura y manipulación para aprovechamiento de la especie (Bonacic y Macdonald, 2003; Zapata y col., 2004; Bonacic y col., 2006; Arzamendia y col., 2010; Taraborelli y col., 2011; Carmanchahi y col., 2011).

Los cambios producidos por el estrés, independientemente de la procedencia del estímulo, afectan al sistema neuro-endócrino, sistema nervioso simpático, sistema inmune y al comportamiento (Möstl y col., 2002; Mcewen, 2007).

Una vez inducido el estrés se puede desencadenar una respuesta aguda o crónica dependiendo de la intensidad y duración del estresor (Dallman, 2003). Ambos tipos de respuesta producen diferentes cambios a nivel fisiológico y comportamental (Dickens y col., 2010). En la Tabla 1 se resumen las consecuencias de la respuesta aguda y crónica al estrés.

Estrés agudo

Una respuesta de estrés aguda involucra inicialmente una reacción rápida para luchar o huir mediada por el sistema nervioso simpático, con liberación de las catecolaminas adrenalina y noradrenalina por la médula de la glándula adrenal (Axelrod y Reisine, 1984; Boonstra, 2005); y por una respuesta al estrés más lenta, en la que la corteza de la misma glándula secreta hormonas glucocorticoides (GC), predominantemente cortisol y corticosterona (Dallman, 2003).

La respuesta al estrés agudo desencadena cambios en distintas funciones orgánicas, entre las cuales las más importantes son a nivel metabólico, cardiovascular y comportamental. A nivel metabólico se produce movilización de energía hacia el

músculo esquelético aumentando rápidamente los niveles de glucemia por las catecolaminas y glucagón, y por medio de movilización de lípidos por lipólisis de células grasas, y aminoácidos por inhibición de la síntesis proteica y proteólisis en varios tipos de músculos (Sapolsky y col., 2000). A su vez, a nivel cerebral incrementa la tasa de perfusión y utilización local de glucosa. Los cambios en la función cardiovascular involucran la activación a través de aumento de presión arterial, aumento de frecuencia cardíaca; y redistribución sanguínea a músculos por constricción de vasos mesentéricos y renales y dilatación de vasos que irrigan la musculatura esquelética (Sapolsky y col., 2000). Entre los cambios comportamentales se produce disminución del apetito y de la alimentación; e inhibición de la fisiología y comportamiento reproductivo (por medio de disminución de comportamientos de cortejo y receptivo en ambos sexos y pérdida de erecciones en machos).

A su vez, en el sistema inmunitario se produce neutrofilia y linfopenia, incrementando el coeficiente Neutrófilos:Linfocitos en sangre, a veces utilizado como indicador de estrés (Stull y Rodiek, 2000). El mecanismo responsable de la linfopenia involucra la marginación y redistribución de los linfocitos dentro el sistema linfático, además de una marcada y acelerada apoptosis. La neutrofilia es causada por la demarginación de neutrófilos, disminución de su apoptosis y la estimulación de células madres a través de factores de crecimiento (Zahorec, 2001). Como se puede ver, las distintas poblaciones de células inmunitarias tienen comportamientos diferenciales en respuesta al estrés agudo, dependiendo de su tipo y estado de activación (Elsasser y col., 2000); pero la generalidad es que la respuesta inmune e inflamatoria son suprimidas (Sapolsky y col., 2000).

Todos estos cambios son tendientes a permitir una reacción rápida frente al estresor y pueden ser beneficiosos para la supervivencia inmediata del animal.

La secreción de GC está controlada por el eje Hipotalámico-Pituitaria-Adrenal (HPA) y es regulada por señales diurnas y activada por estrés (Dallman, 2003). La actividad del eje HPA (Figura 1) desencadenada por exposición a un estresor, gatilla principalmente la secreción de hormona liberadora de corticotropina (CRH), y en menor medida de arginina-vasopresina (AVP) por el núcleo paraventricular del hipotálamo (Boonstra, 2005). La CRH y AVP llegan por circulación portal a la hipófisis anterior,

donde estimulan la liberación de hormona adrenocorticotropina (ACTH) a la circulación general. La ACTH es quien promueve el consumo de colesterol por la corteza de la glándula adrenal, y su conversión enzimática a cortisol y corticosterona para liberarlas al torrente sanguíneo (Matteri y col., 2000; Dallman, 2003; Boonstra, 2005).

El eje HPA deja de responder al estresor por un mecanismo de retroalimentación negativa ejercido por los GC liberados que inhiben directamente su activación ante estímulos adicionales (Sapolsky y col., 1984; Matteri y col., 2000; Boonstra, 2005; Dickens y col., 2010).

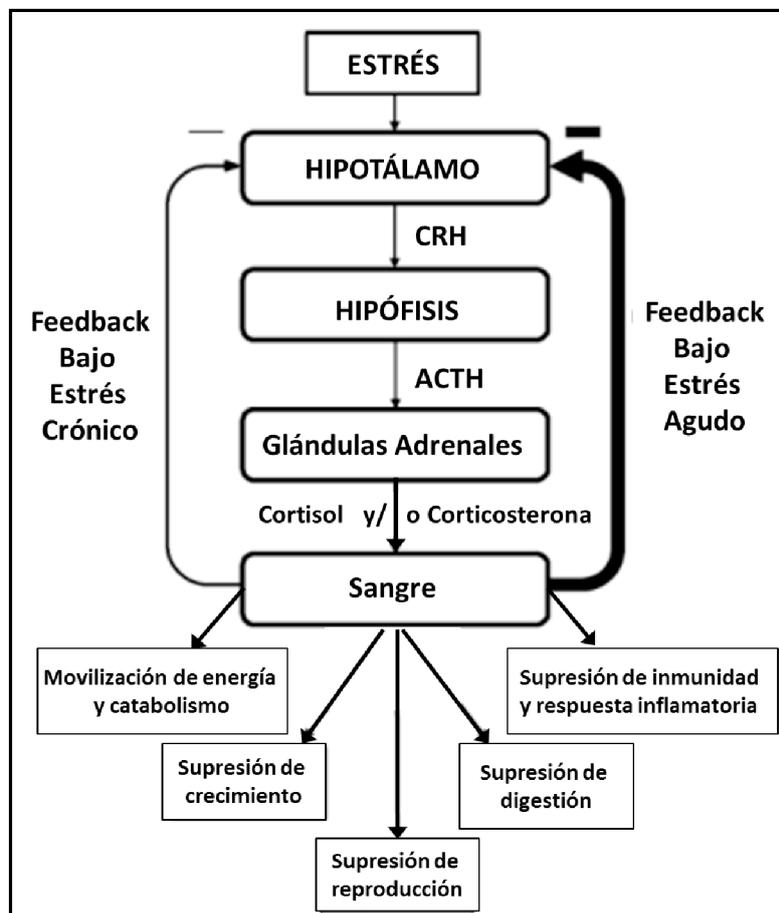


Figura 1.- Eje Hipotalámico-Pituitaria-Adrenal, respuesta de retroalimentación negativa ante un estresor agudo comparada con respuesta a estresor crónico, y los principales efectos en procesos corporales (extraída de Sheriff y col., 2011).

En los mamíferos los GC sanguíneos están estrechamente unidos a una proteína fijadora (transcortina o CBG, “corticosteroid binding globulin”, por sus siglas en inglés), sólo el 5-10% de los GC no se encuentra unido a transcortina (Boonstra, 2005).

Esta fracción libre de GC es la única biológicamente activa (Rosner, 1990), ya que es capaz de abandonar el compartimiento sanguíneo por difusión pasiva a través de las membranas celulares y llegar a órganos blanco (Rijnberk y Mol, 1997; Lopez-Calderon, 1999). Estas hormonas circulantes se metabolizan mayoritariamente en el hígado y luego son eliminadas conjugadas (en forma de glucurónidos o sulfatos) y no conjugadas en distintas proporciones por orina y heces, dependiendo de la especie (Ziegler y col., 1996; Möstl y col., 2002).

Estrés crónico

En situaciones de estrés crónico, el animal es expuesto a un estresor persistente o a una serie de estresores agudos que inician respuestas de estrés consecutivas múltiples. Los cambios fisiológicos y comportamentales iniciales que facilitarían la supervivencia inmediata ya no son beneficiosos y pueden ser perjudiciales para el organismo. La desregulación de mediadores como la liberación crónica de GC y catecolaminas puede producir cambios en el organismo y en el cerebro deletéreos para el animal (Dallman, 2003; Dickens y col., 2010) (Tabla 1).

La activación prolongada del eje HPA afecta el crecimiento y desarrollo del individuo por supresión de la secreción de la hormona de crecimiento (STH), e inhibiendo a su vez los efectos del factor de crecimiento insulínico I (IGF-1, por sus siglas en inglés) (Charmandari y col., 2005), y de otros factores de crecimiento en los tejidos diana (Burguera y col., 1990).

La función tiroidea también se inhibe durante el estrés crónico, ya que se produce una disminución en la producción de la hormona estimulante de la tiroides (TSH), e inhibición de la conversión periférica de tiroxina a tri-iodotironina, que es la hormona biológicamente activa (Benker y col., 1990).

El estrés crónico tiene también efectos catabólicos, ya que los GC, al antagonizar las acciones de la hormona de crecimiento (STH) y de los esteroides sexuales sobre el catabolismo del tejido graso (lipólisis) y anabolismo muscular y óseo (Charmandari y col., 2005), resultan en disminución de la masa corporal (ósea y muscular), y supresión de la actividad osteoblástica.

La función gastrointestinal se ve afectada porque, a largo plazo, el estrés inhibe la secreción de ácido gástrico, a la vez que inhibe la motilidad gástrica, y estimula la función motora a nivel del colon (Tache y col., 1993).

A nivel del sistema inmune, además de inhibir la respuesta inflamatoria (Mastorakos y col., 1999) y la producción de varias citoquinas (Interleuquinas 1, 6, y Factor de Necrosis Tumoral- α) (Tait y col., 2008), el estrés crónico disminuye la maduración, selección y proliferación de linfocitos (Griffin, 1989), y suprime la producción de anticuerpos (Ottaviani and Franceschi, 1996; Maule and VanderKooi, 1999), comprometiendo la resistencia general a las enfermedades (Dhabhar y McEwen, 1997).

Tabla 1.- Respuestas fisiológicas y comportamentales durante estrés agudo y crónico. Modificado de Dickens y col. (2010).

Fisiología - Comportamiento	Estrés Agudo	Estrés Crónico
Eje HPA Glucocorticoides	Movilización de energía Inhibición reproducción	Inmunosupresión Aumento de requerimientos energéticos Supresión reproductiva
Catecolaminas Sistema Cardiovascular	Respuesta “luchar-huir” Movilización de energía	Respuesta atenuada de lucha o huida Desregulación de metabolismo
Sistema inmunológico	Movilización de sistema Inmune	Inmunosupresión Reacciones autoinmunes
Estrategia de reacción comportamental	Huir o “freezing” Aumento de vigilancia	Ansiedad Búsqueda de refugio para reducir exposición a estímulos estresores

Por su parte, los GC también afectan la reproducción, inhibiendo la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH); y hacen que los tejidos diana sean menos sensibles a las hormonas

sexuales (MacAdams y col., 1986; Rivier y col., 1986). También inducen hipogonadismo y reducción de las concentraciones de esteroides sexuales en sangre (Charmandari y col., 2005).

Estudio de Estrés en fauna silvestre

Los niveles de estrés individual se pueden medir aplicando diferentes metodologías. Entre ellas se pueden mencionar a las mediciones de proteínas de choque térmico (HSP, del inglés Heat Shock Proteins) (Arriero y col., 2008), a la evaluación del índice resultante entre los recuentos de Neutrófilos:Linfocitos en la sangre del animal (Stull y Rodiek, 2000), al análisis de niveles de GC o sus metabolitos en sangre, saliva, orina, heces y estructuras tegumentarias (pelo y plumas), y a las observaciones comportamentales de los individuos (Arzamendia y col., 2010; Taraborelli y col., 2011).

Con pocas excepciones, el estudio del estrés afecta los valores de las variables que están siendo estudiadas y se puede arribar a una interpretación errónea de los resultados. De acuerdo a esto, hay una fuerte tendencia a reducir el alcance del contacto y la invasividad del estudio (Cook y col., 2000), por lo que las técnicas menos invasivas como las observaciones comportamentales, y las determinaciones de GC en heces y tejidos tegumentarios son las preferidas de los estudios de estrés en poblaciones silvestres.

Análisis de glucocorticoides fecales

Varios estudios han evaluado los niveles de metabolitos de cortisol fecal de animales domésticos utilizando radio-inmuno-ensayo (RIA, por sus siglas en inglés) (Taylor, 1970). Una de las principales razones para aplicar esta metodología, es que al evaluar la concentración de metabolitos de GC en heces, se puede inferir el impacto de determinados estresores sobre los niveles plasmáticos de GC sin necesidad de capturar o manipular a los animales. Sin embargo, hay que tener en cuenta las diferencias en los niveles plasmáticos de GC entre especies (revisado en Palme, 2005), como ser ritmos diarios, variaciones estacionales, efectos de clima, sensibilización y habituación (Millspaugh y Washburn, 2004; Touma y Palme, 2005; Goymann, 2005; Wasser y Hunt, 2005). A su vez, también hay diferencias individuales en las concentraciones plasmáticas de GC, y se han reportado también variaciones entre sexo, edad, y entre las

distintas etapas de desarrollo en la historia natural de una especie (como muda o estatus reproductivo) (Wada, 2008; Stoewe y col., 2013).

La relevancia biológica de las mediciones de metabolitos de cortisol en heces, esto es, que los cambios en la concentración de metabolitos de cortisol en materia fecal son paralelos a los niveles de cortisol en sangre, fue demostrada en rumiantes, a través de estimulación con ACTH exógena (Miller y col., 1991; Möstl y col., 2002; Palme, 2005), o supresión de la liberación de cortisol con inyecciones de dexametasona (Palme y col., 1999). Este método demostró su utilidad para evaluar la actividad adrenocortical de rumiantes domésticos como caprinos, bovinos y ovinos (Palme y col., 1999; Möstl y col., 2002; Pesenhofer y col., 2006; Lexen y col., 2008; Kleinsasser y col., 2010; Rouha-Muelleder y col., 2010), y rumiantes silvestres, como por ejemplo en muflón canadiense (*Ovis canadensis*; Miller y col., 1991).

El efecto de mezclado por movimientos peristálticos y el tiempo de retención en el intestino hacen que la concentración de metabolitos de GC fecales refleje la tasa de producción de estas hormonas esteroideas, es decir, la secreción y eliminación acumulada de GC durante varias horas, amortiguando la detección de fluctuaciones episódicas o patrones de secreción pulsátil (Touma y Palme, 2005). En este sentido, Möstl y col. (2002), afirmaron que en rumiantes la concentración de metabolitos de cortisol en materia fecal refleja la producción de cortisol de aproximadamente 12 horas previas. En consecuencia, las determinaciones de metabolitos de esteroides fecales representan el estado hormonal del animal de unas horas previas a la eliminación de las fecas.

La determinación de metabolitos de GC en heces ha cobrado gran importancia en el estudio de estrés en especies silvestres por no ser invasiva. Ha sido aplicada y validada en un sinnúmero de especies. Ejemplos del alcance de su aplicación son los trabajos realizados con aves: lechuza moteada del norte (*Strix occidentalis caurina*; Wasser y col., 1997) y ganso común (*Anser anser*; Hirschenhausen y col., 2005). Con roedores se aplicó en *Peromyscus maniculatus*, y *Clethrionomys gapperi* (Harper y Austad, 2000), y en lagomorfos con *Lepus americanus* (Sheriff y col., 2009). También se aplicó en estudios de carnívoros, con hienas (*Crocuta crocuta*; Goymann, 1999), y con lobos (*Canis lupus*; Sands y Creel, 2004). Y entre los trabajos que la utilizaron con

especies de artiodáctilos, en wapiti (*Cervus canadensis*; Millspaugh y col., 2001), ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*; Millspaugh y col. 2002), corzo (*Capreolus capreolus*; Dehnhard y col., 2001), renos y caribúes (*Rangifer tarandus*; Ashley y col. 2011), ciervo colorado (*Cervus elaphus*; Huber y col. 2003), y gamo europeo (*Dama dama*; Konjevic y col., 2011).

Estado inmunitario en poblaciones silvestres

Una de las defensas más eficientes desarrolladas por los vertebrados para resistir los efectos de los parásitos es su sistema inmunológico (Moller y col., 1998). La evaluación de la función de este sistema ha cobrado gran importancia en la investigación de poblaciones de animales silvestres (Matson y col., 2005), pero los tipos de ensayos que se pueden emplear son restringidos debido al estrés resultante de captura y manejo, y a la falta de certeza de recaptura (Matson y col., 2005). Al respecto, Boughton y col. (2011) enfatiza que la medición de un único parámetro de inmunidad no refleja la complejidad de la función inmune, por lo que recomienda considerar a los ensayos como indicadores de un determinado componente de la complejidad inmunológica, y no como un índice de inmunocompetencia general.

Anticuerpos Naturales

Una fracción de las defensas inmunológicas de los organismos es innata, y provee protección inespecífica inicial contra patógenos invasores (Schmid-Hempel y Ebert, 2003). Entre estas defensas innatas se encuentran los anticuerpos naturales (AN) y el sistema del complemento. Los AN son únicos entre las inmunoglobulinas porque su presencia no depende de exposición previa con un antígeno en particular (Matson y col., 2005), y porque su respuesta es menos dependiente del estatus nutricional del animal y de sus niveles de estrés (Deerenberg y col., 1997) que la respuesta producida por los anticuerpos adquiridos.

A nivel molecular, la gran mayoría de AN son inmunoglobulinas M (IgM), pero también se han reportado algunas formas de IgG e IgA (Avrameas, 1991). Entre las funciones propuestas para los AN se incluyen el control directo de virus y bacterias a los que no se había expuesto el organismo, el aumento de la presentación de antígenos, y el desencadenamiento de las respuestas específicas de linfocitos B y T (Boes, 2000).

En mamíferos, la principal fuente de AN son los linfocitos B-1 peritoneales, y del tejido linfoide intestinal, por lo que se ha propuesto que los AN podrían ser importantes en la eliminación de organismos que atraviesen la barrera del epitelio intestinal (Reid y col., 1997).

Parasitismo y sus efectos a nivel del hospedador individual

El parasitismo es una de las formas de vida más frecuente entre los organismos vivientes (Hudson y col., 2002). Se ha registrado la presencia de parásitos en la gran mayoría de animales silvestres (Wobeser, 2013).

Es muy difícil determinar la importancia que tienen las infecciones parasitarias en fauna. Los animales silvestres se examinan frecuentemente de manera oportunista, por ejemplo, cetáceos y focas examinados son los que quedan abandonados o capturados accidentalmente en redes de pesca (Stroud, 1978; Cerioni y Mariniello, 1996), o las carcasas frescas que se pueden examinar son las de animales provistos por cazadores (Kuzmina y col., 2010) o encontradas en las rutas por accidentes de tránsito. Los animales encontrados por muestreos que no se realizan al azar pueden acarrear cargas atípicas, por lo que tales relevamientos deberían ser usados solamente como un reflejo parcial de la ocurrencia de parasitismo o enfermedad en la población general. De la misma manera, es muy difícil atribuir con certeza la muerte de animales examinados a los parásitos presentes en sus tractos gastrointestinales, ya que el impacto de la enfermedad parasitaria en el hospedador individual puede depender también de otros factores, tales como heridas o una condición corporal pobre (Tompkins y Begon, 1999).

Entre los efectos más importantes de la patogénesis de parasitosis gastrointestinales (GI) se encuentran la reducción de ingesta alimenticia del hospedador y un incremento en las pérdidas de proteína endógena (Coop y Kyriazakis, 2001), aunque también pueden causar pérdida de sangre en bovinos y ovinos (Le Jambre, 1995; Fox, 1997) o alterar los metabolismos mineral y energético (Van Houtert y Sykes, 1996). El estudio del efecto de nematodos y protozoos en la digestión y absorción de los nutrientes de los rumiantes ha tenido resultados contradictorios. Hoste (2001) concluyó que la presencia de parásitos en el intestino conduce a una deficiencia local en la absorción de los nutrientes por los múltiples cambios estructurales y funcionales inducidos en el sitio de infección, pero las respuestas adaptativas del intestino resultan

en absorción compensatoria de un rango de nutrientes en áreas intestinales libres de parásitos. El consenso general es que el impacto que tienen las infecciones parasitarias en estas funciones digestivas es menor. El principal efecto de los parásitos GI a nivel nutricional se da en el metabolismo proteico. Los parásitos inducen un incremento en la pérdida de proteína endógena al lumen intestinal (Poppi y col., 1986; Bown y Sykes, 1991). Como consecuencia, se produce un incremento en el requerimiento de proteína metabolizable desencadenando la redistribución proteica fuera del circuito de las funciones somáticas como crecimiento muscular, óseo y de lana, para poder satisfacer funciones reparadoras del tracto GI, secreción de mucus y/o reemplazo de plasma y sangre (Symons y Jones, 1975; Jones y Symons, 1982; MacRae, 1993). Es por esto que los animales con niveles subclínicos de infección crecen más lentamente, y los adultos tienen disminuciones en la productividad y fertilidad (Sykes, 1978).

La parasitosis clínica (o sus signos aparentes) no es la única consecuencia significativa de infección parasitaria. Las cargas parasitarias bajas, sin signos clínicos aparentes, pueden reducir la condición general, por sí mismas o en combinación con factores ecológicos y fisiológicos. La mayor información acerca de los efectos subclínicos de infecciones parasitarias proviene de estudios de rumiantes domésticos, cuyas pérdidas por parasitismo son de importancia económica considerable (Corwin, 1997).

Los efectos negativos de parasitismo GI son potenciados en individuos mal nutridos (Van Houtert y Sykes, 1996; Wallace y col., 1998; Coop y Kyriazakis, 2001). Los animales silvestres se encuentran habitualmente en situaciones de restricción nutricional, sobre todo en ambientes de baja productividad vegetal, durante las que están expuestos a mayor riesgo de enfermedad. Esta condición hace que los ungulados silvestres sean susceptibles a cargas parasitarias que en ganado doméstico, alimentado de forma adecuada, puedan ser consideradas insignificantes (Halvorsen y col., 1999).

La co-infección de varios tipos de parásitos es ubicua en animales silvestres. En la literatura frecuentemente se hace referencia a estas cargas parasitarias como normales, interpretando que los parásitos a este nivel tienen escaso o nulo impacto en el animal. Sin embargo, se desconoce el efecto real de estos parásitos sobre el hospedador. Aunque la mayoría de los agentes infecciosos no resultan en enfermedad obvia, el hospedador

debe pagar un precio por albergar parásitos que viven, crecen y se reproducen a sus expensas (Yuill, 1987). En ganado doméstico, este precio puede ser determinado en términos de disminución en la eficiencia de producción (Corwin, 1997). A pesar de esto, el verdadero alcance del costo se desconoce frecuentemente hasta que se elimina el parásito o enfermedad. Este tipo de evaluación no es posible en animales silvestres, pero observaciones de animales en semi-cautiverio, de la misma especie o especies emparentadas, tales como planteles de producción o cotos de caza, proveen alguna inferencia del costo del parasitismo. Por ejemplo, von Szokolay y Reh binder (1984) reportaron un incremento de 20% en la tasa de crecimiento de gamos (Dama dama) luego que parásitos gastrointestinales de la especie más frecuente fueran controlados parcialmente con el uso de antihelmínticos. Además, el tratamiento con antihelmínticos incrementó aproximadamente un 100% la ganancia de peso corporal de cervatillos y favoreció el crecimiento de la cornamenta en machos de corzos silvestres (*Capreolus capreolus*) (Düwel, 1987).

Parasitismo y sus efectos en la población de hospedadores

Medir el impacto de una enfermedad parasitaria a nivel poblacional a campo, sin intervenir experimentalmente es una meta difícil de realizar, ya que uno de los fenómenos sobresalientes en la distribución parasitaria es que ésta se encuentra de forma agregada en sus hospedadores, al menos en distribuciones de macroparásitos (Shaw y Dobson, 1995; Shaw y col., 1998). Esto significa que la mayoría de los hospedadores albergan cargas parasitarias muy bajas o nulas, y unos pocos hospedadores tienen cargas muy altas. Existe evidencia de que los macroparásitos pueden regular el número de hospedadores a nivel poblacional directamente (Hudson y Dobson, 1995). Sin embargo, esta regulación sólo ha sido demostrada en situaciones experimentales, donde la remoción de un factor regulador resulta en un cambio en la población en equilibrio, y su reintroducción reestablece el equilibrio al nivel inicial (Sinclair, 1989). Así, Dobson y Hudson (1992), en un sistema de grullas rojas (*Lagopus lagopus scoticus*) y cargas de *Trichostrongylus tenuis*, demostraron que la intensidad de infección parasitaria causa ciclos poblacionales en grullas del norte de Inglaterra. Murray y col. (1997), en un trabajo similar pero con aplicación de antiparasitarios en liebre americana (*Lepus americanus*), demostraron que el parasitismo subletal puede afectar la tasa de mortandad de los hospedadores por incremento en el riesgo de

predación. A su vez, Newey y col. (2004), aplicando el mismo tratamiento a liebres de montaña (*Lepus timidus*), demostraron que los parásitos disminuyen la condición corporal de los hospedadores y que podrían afectar la fecundidad de las hembras. Otro modo de regulación poblacional es por medio de inmunosupresión, por un efecto retardado dependiente de la densidad, evidenciado en un sistema de ovejas Soay (*Ovis aries* L.) y cargas parasitarias del nematode *Teladorsagia circumcincta* (Gulland y Fox, 1992), cuyas cargas contribuyen en gran escala con la mortandad de hospedadores desnutridos, exacerbando los efectos de la escasez alimentaria. Independientemente del mecanismo regulador interviniente, el impacto de los parásitos en la población de sus hospedadores parece depender del contexto (Brown y col., 2003; Eberhardt y col., 2013).

Entre los factores que afectan la intensidad parasitaria, los más frecuentemente estudiados son los relacionados con variables del hospedador, como sexo (Grossman, 1985; Alexander y Stimson, 1988; Folstad y Karter, 1992), edad (Bundy y col., 1985; Pacala y Dobson, 1988; Sol y col., 2002), condición corporal (Alzaga y col., 2008), tamaño de grupo social (Côté y Poulin, 1995; Altizer y col., 2003; Snaith y col., 2008); y con variables ambientales como estación y clima (Cattadory y col., 2005).

Los estudios que abordan el impacto de los niveles de estrés en las intensidades parasitarias de animales son escasos en la literatura actual (Fleming, 1997). En estudios con corderos de oveja doméstica (*Ovis aries*), Fleming (1997) evidenció que individuos parasitados tenían mayores niveles de cortisol. A su vez, lagartijas *Sceloporus occidentalis* parasitadas con *Plasmodium mexicanum* tuvieron mayores niveles de cortisol como respuesta al estrés de captura que aquellas no infectadas (Dunlap y Schall, 1995). Sin embargo, Goldstein y col. (2005) no encontraron asociaciones entre niveles de metabolitos de glucocorticoides fecales y carga de larvas de parásitos pulmonares en materia fecal de muflón canadiense (*Ovis canadensis canadensis*). Recientemente, Eberhardt y col. (2013) evaluaron el efecto neto de dos tipos de estrés crónico (físico y nutricional) sobre interacciones hospedador-parásito en carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*), y evidenciaron que el estrés causó mayores intensidades de infección de coccidios GI, pero condujo a su vez a menores cargas de nematodos GI.

Guanaco (*Lama guanicoe*)

Clasificación taxonómica

Los camélidos sudamericanos (CS) comprenden cuatro especies de mamíferos que pertenecen al orden Artiodactyla, suborden Tylopoda, familia Camelidae y tribu Lamini. El guanaco (*Lama guanicoe* Müller 1776) y la vicuña (*Vicugna vicugna* Molina 1782) son las dos únicas especies silvestres de este grupo, y la llama (*Lama glama* Linnaeus, 1758) y alpaca (*Lama pacos* Linnaeus 1758) son especies que surgieron por domesticación del guanaco y la vicuña, respectivamente, por parte de culturas preincaicas (Wheeler, 1995).

La familia Camelidae incluye dos tribus: Lamini, que comprende a los CS; y Camelini, que está representada por los camélidos del viejo mundo. Ambas tribus tienen como ancestro común a la especie *Protylopus petersoni*, que habitó en América del Norte aproximadamente 45 millones de años antes del presente (Stanley y col., 1994). El género *Pliauchenia*, primer representante de la tribu Lamini, se originó hace aproximadamente 9 a 11 millones de años (Harrison, 1985), también en América del Norte. *Pliauchenia* dio origen a *Hemiauchenia*, el primer género de CS que habitó en Sudamérica, y se distribuía por las planicies del este de la cordillera de los Andes hace aproximadamente 3 millones de años (López Aranguren, 1930; Harrison, 1985). Hacia la mitad del Pleistoceno, 2 millones de años antes del presente, a partir de *Hemiauchenia* evolucionaron los actuales géneros *Lama* y *Vicugna*, más adaptados a los ambientes montañosos de los Andes (Fowler y col., 2010).

La tribu Camelini migró de América del Norte a Asia en uno de los períodos glaciales tempranos del Pleistoceno, cuando el nivel del mar descendió hasta exponer una masa de tierra que unía ambos continentes. Esta tribu se extinguió en América del Norte y continuó su proceso evolutivo en Asia, desde donde extendió su distribución hacia Europa oriental y el norte de África. Los camélidos actuales pertenecientes a esta tribu son el camello bactriano doméstico (*Camelus bactrianus*), el camello bactriano silvestre de Mongolia (*Camelus bactrianus ferus*), y el dromedario (*Camelus dromedarius*).

Distribución poblacional y estatus de conservación de la especie

La población original de guanacos, presentes durante el periodo prehispánico, fue estimada entre 30-50 millones de animales (Raedeke 1979); abundancia que fue disminuyendo drásticamente durante la colonización hasta la actualidad. A fines del siglo XIX, la población de guanacos descendía a 10 millones de individuos (Cabrera y Yepes, 1940; Torres, 1985) y para la década de 1980 no superaba los 600.000 animales para todo el Cono Sur (menos del 15% de la abundancia original), con el 96% del total de la población concentrada en Argentina (Franklin, 1982; Torres, 1985), principalmente en la región Patagónica (Figura 2).

Actualmente, el guanaco tiene su distribución más amplia en Argentina y Chile, y cuenta con poblaciones relictuales en Perú (Wheeler, 2006; Véliz y Hoces, 2007), Bolivia (Cuéllar y Fuentes, 2000) y Paraguay (Villalba, 2004), mientras que en Ecuador se lo considera extinto (Cunazza y col., 1995). Esta distribución se encuentra fragmentada en poblaciones relativamente aisladas, y concentradas mayormente en áreas protegidas y estancias privadas (Franklin y col., 1997; Baldi y col., 2010). Si bien en Argentina es el herbívoro nativo dominante de la Estepa Patagónica (Franklin, 1982; Cunazza y col., 1995) ocupa sólo el 40% de su distribución original, mientras que en Chile mantiene sólo el 25% de la distribución original (Cunazza y col., 1995) (Figura 2).

El Primer Censo Nacional de Camélidos Silvestres al Norte del Río Colorado (Argentina) realizado en 2006 (Baigún y col., 2008), reportó una abundancia total de entre 30.000 y 36.000 animales para las provincias de Jujuy, Salta, Catamarca, La Rioja, San Juan, Mendoza y San Luis. Las poblaciones más abundantes de todo el país se presentan en la región Patagónica (Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz, Tierra del Fuego y el Sur de Mendoza), con densidades que pueden superar los 30 guanacos/km². Existen poblaciones con densidades bajas (<5 guanacos/km²) o muy bajas (<2 guanacos/km²) en algunos ambientes de Chubut, Río Negro, Neuquén, San Juan, La Rioja y Catamarca, con alto grado de fragmentación entre ellas (Baldi y col., 2001, 2010; Puig y col., 1997, 2003; Acebes y col., 2010). Para el resto del territorio argentino las densidades están por debajo de 1 guanaco/km² con poblaciones altamente fragmentadas, con algunas poblaciones relictuales en el norte de Mendoza, La Pampa,

Córdoba y Provincia de Buenos Aires (Dalmasso y col., 1999; Sosa y Sarasola, 2005; Baigún y col., 2008; Puig y Videla, 2007).

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) en su última categorización, del año 2008, estimó un tamaño poblacional de entre 466.000 y 520.000 guanacos para Argentina (Baldi y col., 2008), ubicando su estatus de conservación en la categoría de Preocupación Menor (Baldi y col., 2008), debido a su amplia distribución, gran tamaño poblacional y a su presencia en numerosas áreas protegidas. En la edición del año 2000 del libro Rojo de Mamíferos amenazados de la Argentina, el estatus de conservación de *Lama guanicoe* fue categorizado como Potencialmente Vulnerable por la gran variación en las situaciones de las poblaciones (de Preocupación Menor en las poblaciones australes a Vulnerables en las poblaciones septentrionales) (Díaz y Ojeda, 2000); y según Baldi y col. (2008), es probable que el guanaco se extinga a nivel nacional en tres de los cinco países (Bolivia, Perú y Paraguay) que conforman su área de distribución histórica. Sin embargo, en la edición del año 2012 del Libro Rojo de Mamíferos de Argentina fue clasificado como Preocupación Menor (Ojeda y col., 2012). A su vez, el guanaco está incluido en el Apéndice II de la Convención Internacional sobre el Tráfico de Especies Amenazadas de Fauna y Flora (CITES), que sólo permite su aprovechamiento con restricciones y regulaciones. En Argentina el uso de la especie ha sido regulado desde la elaboración del Plan Nacional de Manejo del Guanaco, cuyo objetivo fue coordinar las acciones de regulación que aseguren la conservación del guanaco en toda su área de distribución para que la especie siga cumpliendo su rol biológico, económico y cultural (Baldi y col., 2006).



Figura 2.- Distribución histórica y actual del guanaco (*L. guanicoe*) en Sudamérica (modificado de Franklin y col., 1997).

Ecología, anatomía digestiva y comportamiento (breve descripción)

Lama guanicoe (Figura 3) es una especie que tiene una gran plasticidad ecológica, por lo que puede vivir en una amplia variedad de ambientes, desde el nivel del mar hasta 5.000 metros de altitud, adaptándose a ecorregiones muy diferentes (Puna, Prepuna, Altoandina, Monte, Patagonia, Chaco, Espinal, Pampa), con características topográficas (mesetas, valles, llanuras, vegas, laderas), fisonómicas (estepas, pastizales, arbustales, bosques) y climáticas contrastantes (González y col., 2006; Vilá, 2012). El guanaco se caracteriza por ser generalista en sus hábitos alimenticios, de selectividad intermedia, pudiendo alternar el comportamiento de forrajeo entre pastoreo y ramoneo, según la disponibilidad de alimento (Puig y col., 2001; Baldi y col., 2004). Son bebedores ocasionales, y por lo tanto no tan dependientes de cuerpos de agua dulce para su distribución, especialmente en la temporada seca (Vilá, 2012).

La digestión de los guanacos se produce por medio de un gran compartimiento de fermentación, y con regurgitación y remasticado del bolo alimenticio; al igual que se produce en los rumiantes (Orden Artiodactyla, Suborden Ruminantia), de los que el Suborden Tylopoda se separó evolutivamente hace 40 millones de años (Fowler y col., 2011). Es por esta divergencia evolutiva que los 3 compartimientos estomacales de los

camélidos (C1, C2, y C3) no son morfológicamente análogos con los 4 compartimientos de Ruminantia (rúmen, retículo, omaso, y abomaso). Entre las principales diferencias se puede mencionar que C1 y C2 de los CS no tienen papilas, y que existen áreas glandulares en C1, C2, y C3; lo que les permite realizar una digestión de vegetales fibrosos más eficiente que la de especies de Ruminantia (Vallenas y col., 1971).

La organización social de *Lama guanicoe*, que varía a lo largo del año, tanto en el tamaño de los grupos como en su composición, especialmente en poblaciones migratorias, se caracteriza por la formación de grupos familiares poligínicos (un macho reproductivo territorial con sus hembras y crías del año), grupos de machos solteros (reproductivos sin territorio y no reproductivos) e individuos solitarios (en general machos sexualmente maduros con o sin territorios, sin hembras) (Franklin, 1982; Puig y Videla, 1995).

Las poblaciones de guanacos de áreas de buena calidad forrajera y de clima estable tienen tendencia al sedentarismo (Raedeke, 1979; Franklin, 1983), mientras que en zonas de inestabilidad climática, nevadas y baja calidad de recursos alimenticios pueden formar grandes grupos mixtos, conformados por individuos de grupos familiares, grupos de machos solteros e individuos solitarios, y migrar a zonas más favorables (Franklin, 1983; Ortega y Franklin, 1995; Bank, 1998) (Figura 3).

El sistema de apareamiento ha sido descrito como poliginia de defensa de recursos, donde los machos adultos defienden activamente territorios de alta calidad forrajera y refugio, incluidas las vías de escape (Franklin, 1983; Puig y Videla 1995; Young y Franklin, 2004).

Los grupos familiares se forman típicamente durante la época de apareamientos y pariciones (verano). En poblaciones migratorias, al inicio del otoño y hasta la siguiente temporada reproductiva, los grupos familiares se disuelven y forman grupos mixtos con otros tipos de grupos sociales (Puig y Videla, 1995).

La temporada de pariciones, apareamientos e inicio de la lactancia varía según la latitud, pero las condiciones ambientales determinan que ocurra entre fines de primavera y verano, coincidiendo con la época de máxima productividad de la vegetación y mayores temperaturas (Raedeke, 1979; Garay y col., 1995; Vilá, 2012).

En estado silvestre, los guanacos pueden llegar a vivir más de 25 años y los adultos pueden alcanzar un peso de 120-130 kg, aunque la mayoría raramente supera los 100 kg (de Lamo, 2011).

Las hembras pueden reproducirse a partir de los dos años de edad, y al igual que todos los camélidos, tienen ovulación inducida por la cópula. Las crías nacen luego de 350 días de gestación promedio, y a las pocas semanas, las hembras vuelven a estar receptivas (Sarno y Franklin, 1999a). Los chulengos (crías menores a un año) permanecen con la madre durante el siguiente año hasta que son expulsados por el macho del grupo familiar, probablemente para evitar competencia por alimento con las nuevas crías por nacer (Sarno y col., 2003); aunque también se pueden encontrar hembras con chulengos recién nacidos y añales (individuos que tienen entre 1 y 2 años) que aún no han sido expulsados del grupo familiar.



Figura 3.- Grupo mixto de guanacos en sector NE de La Payunia.

Análisis de Glucocorticoides en Camélidos Sudamericanos

Los primeros trabajos que utilizaron mediciones de cortisol en sangre de CS como respuesta a estrés fueron los de Anderson (1999) y Bravo (2001), en los que se midió el impacto de transporte y destete en Vicugna pacos. Ríos y col. (2003) evaluaron los niveles de cortisol en suero para inferir el efecto del destete, y Zapata y col. (2004) investigaron los cambios en las concentraciones de cortisol sérico luego del transporte en guanacos en cautiverio. En cuanto a guanacos silvestres, Carmanchahi y col. (2011) midieron el efecto de captura y esquila a través de cortisol sanguíneo, validando la aplicación de la técnica para uso en esta especie; y Taraborelli y col. (2011) correlacionaron las respuestas comportamentales de los guanacos con los niveles de cortisol sérico en el mismo tipo de manejo. A su vez, Ovejero y col. (2013) compararon los niveles de cortisol y corticosterona séricos en respuesta a captura y esquila de

guanacos silvestres de la reserva La Payunia y determinaron que el cortisol es el glucocorticoide que responde en mayor magnitud ante este tipo de estresores.

En vicuñas silvestres (*Vicugna vicugna*), Bonacic y Macdonald (2003) y Bonacic y col. (2006) midieron el impacto fisiológico de captura y esquila en Chile, y Arzamendia y col. (2010) compararon la respuesta comportamental y fisiológica (niveles de cortisol plasmático) que desencadenaron diferentes tipos de arreo para captura y esquila en el norte de Argentina.

La variación estacional de metabolitos fecales de cortisol ha sido evaluada en machos y hembras silvestres de *L. guanicoe* (Ovejero, 2013) por medio de RIA. A su vez, Arias y col. (2013) realizaron la validación fisiológica de una técnica inmunoenzimática para monitorear estrés midiendo los niveles de metabolitos de cortisol en heces de llama (*Lama glama*), alpaca (*Vicugna pacos*) y vicuña silvestre.

Conocimiento del estado inmunitario de Camélidos Sudamericanos

Existen en la literatura algunos trabajos que han reportado los perfiles leucocitarios analizados en guanacos en cautiverio (Ríos y col., 2003; Zapata y col., 200; Zapata y col., 2004; Fowler y Zinkl, 1989; Fowler, 2011), y sólo uno que los estudió guanacos silvestres (Karesh y col., 1998).

Con respecto a la inmunidad conferida por anticuerpos en CS silvestres, los estudios realizados han sido dirigidos a medir, con diversas técnicas, los niveles de inmunoglobulinas específicas para Rotavirus (RV), virus de Parainfluenza Bovina 3 (BPIV-3), Herpesvirus Bovino 1 (BHV-1), virus de Diarrea Viral Bovina (BVDV-1), Aftosa (FMDV), virus de la enfermedad de Lengua Azul (BTV), Herpesvirus Equino 1 (EHV-1), y virus de Influenza Equina A (EIV), en sangre de vicuñas silvestres (Marcoppido y col., 2010); y los niveles de anticuerpos para el virus causante de la enfermedad de Lengua Azul, virus de Diarrea Viral Bovina (DVB), Brucelosis, Virus Respiratorio Sincicial Bovino (BRSV), Herpesvirus Equino 1, Aftosa, Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), *Mycobacterium* causante de enfermedad de Johne, *Leptospira*, virus de Parainfluenza 3, y para el virus de Estomatitis vesicular (VSV) en guanacos silvestres (Karesh y col., 1998); y para Rotavirus (RV) y Coronavirus bovino (CV) (Parreño y col., 2001) en suero de guanacos en cautiverio.

Con respecto a niveles de AN en CS, el único trabajo que existe hasta el momento es el de Racca y col. (2013), que describe los niveles encontrados en animales esquilados en La Payunia, que surgieron de los análisis realizados para esta Tesis (ver Resultados).

Parasitismo gastrointestinal en Camélidos Sudamericanos silvestres

Una variedad considerable de helmintos parasita a los CS. Varios nematodos comunes para ovinos o bovinos han sido documentados en camélidos (Fowler, 1989; Leguía, 1991; Tait y col., 2002; Ballweber, 2009). Además, en la literatura se asume que muchos de los nematodos de rumiantes domésticos también parasitan a CS (Leguía, 1991; Karesh y col., 1998; Tait y col., 2002). Sin embargo, también hospedan nematodos especie-específicos, tales como *Trichuris tenuis*, *Graphinema aucheniae*, *Spiculoptera peruviana*, *Nematodirus lamae*, *Camelostrongylus mentulatus* y *Lamanema chavezi* (Leguía, 1991; Rickard y Bishop, 1991; Beldomenico y col., 2003). Con respecto a los platelmintos, los CS son hospedadores definitivos de las especies *Moniezia expansa*, *Moniezia benedeni* y *Thysaniezia giardi*, y del trematode *Fasciola hepatica* (Bustanza, 1982; Hurtado, 1985a, b; Guerrero, 1987; Leguía, 1991; Issia et al., 2009). Los protozoos también forman parte de la comunidad parasitaria de CS. Se han reportado coccidios del género *Eimeria* y *Sarcocystis* en llamas, vicuñas, alpacas y guanacos (Soulsby, 1982; Levine y Ivens, 1970; Gorman y col., 1984; Leguía, 1991; Beldomenico y col., 2003).

Si bien la bibliografía referente a parasitosis GI en CS es abundante, la mayor cantidad de información aborda el conocimiento de parasitosis GI, su patología, estudios experimentales, tratamiento, e impacto en la producción de CS domésticos (llama y alpaca) en su lugar de origen (Becklund, 1963; Guerrero, 1967; Guerrero y col., 1971; Leguía, 1991; Leguía y Casas, 1997; Cafrune y col., 2001, 2009a, b; Palacios y col., 2006; Rosadio y col., 2010) o en planteles de producción de otras partes del mundo (Kiorpes y col., 1987; Schrey y col., 1991; Foreyt y Lagerquist, 1992; Jarvinen, 1999; Tait y col., 2002; Cebra y col., 2003., 2007; Cebra y Stang, 2008; Jarvinen, 2008; Ballweber, 2009; Johnson y col., 2009).

La información publicada concerniente a parásitos de los CS silvestres es escasa. La fauna parasitaria de guanacos fue estudiada por Quiroga y col. (1969), Navone y

Merino (1989), Beldomenico y col. (2003), Karesh y col. (1998), Castillo y col. (2008), Issia y col. (2009), y Moreno y col. (2013) en guanacos silvestres; por Correa y col. (2011) en guanacos en semicautiverio; y por Larrieu (1982), Cafrune y col. (2009a, b) en guanacos de procedencia no reportada. El estudio de parásitos de vicuñas silvestres también cuenta con acotada literatura. Becklund (1963), Beltrán-Saavedra y col. (2011) y Cafrune y col. (2009a, b), son los trabajos de referencia en esta materia.

Si bien el conocimiento acerca de los endoparásitos de CS se ha incrementado en los últimos 25 años, la gran mayoría de los trabajos reportan estudios de parasitosis de las especies domésticas de camélidos, llama y alpaca; y los que se refieren a los camélidos silvestres guanaco y vicuña reportan la presencia de parásitos analizando su prevalencia, intensidad, y en algunos casos lesiones encontradas en necropsias. Sin embargo, ninguno de estos estudios hace un seguimiento longitudinal de las dinámicas parasitarias en una población del hospedador determinada.

La situación actual de las poblaciones de *Lama guanicoe*, especie clave para los ecosistemas de las zonas áridas de Argentina, que en la actualidad se encuentra ampliamente fragmentada, que ha sufrido una declinación poblacional reciente, y que en un gran porcentaje de su rango de distribución cohabita con herbívoros domésticos (de quienes puede recibir parásitos), hace necesario el desarrollo de investigaciones que generen conocimiento acerca de las especies que componen la comunidad parasitaria, de sus dinámicas de intensidad, y de la proporción de las poblaciones que afectan. Esta información es crucial para comenzar a entender el impacto de los parásitos, generalmente subestimado, en las dinámicas de salud de esta especie.

Hipótesis de trabajo:

La abundancia de parásitos gastrointestinales de guanacos silvestres es modulada por los diferentes factores intrínsecos de los guanacos (sexo, categoría de edad, condición corporal, tipo y tamaño de grupo social al que pertenecen), y extrínsecos (estación climática, condiciones meteorológicas).

Objetivo General

La meta de esta tesis fue investigar los factores determinantes de las dinámicas de la comunidad parasitaria de guanacos silvestres (*Lama guanicoe*) de la Reserva La Payunia, situada en el centro-oeste de Argentina.

Objetivos específicos:

1. Identificar los parásitos gastrointestinales que componen la comunidad parasitaria de guanacos silvestres de la reserva Provincial La Payunia, Mendoza.
2. Investigar asociaciones entre abundancia parasitaria y los factores tradicionalmente considerados como determinantes, extrínsecos (estación climática, condiciones meteorológicas) e intrínsecos (sexo, edad, condición corporal, tipo y tamaño de grupo social) del hospedador.
3. Investigar asociaciones entre carga parasitaria y niveles de metabolitos de cortisol fecal (como indicador de estrés).
4. Investigar asociaciones entre niveles de anticuerpos naturales de guanacos esquilados con su carga parasitaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo al sur de la Provincia de Mendoza, en el departamento de Malargüe, entre los 36° 00' y los 36° 36' de latitud Sur y desde los 68° 34' a los 69° 23' de longitud Oeste. Comprende parte de la Reserva Provincial La Payunia (categorizada como Reserva natural estricta según la Comisión Mundial de Áreas Protegidas perteneciente a la UICN), y alrededores (Figura 4), y está ubicada dentro del área conocida como “La Payunia”, cuyo nombre proviene del grupo volcánico Payén. Por sus particularidades geológicas, edáficas, climáticas y fitosociológicas, Martínez Carretero (2004) ha propuesto a la región como una Provincia Fitogeográfica propia, separándola de la descripción anterior de Cabrera (1971) como un Distrito dentro de la Provincia Patagónica.

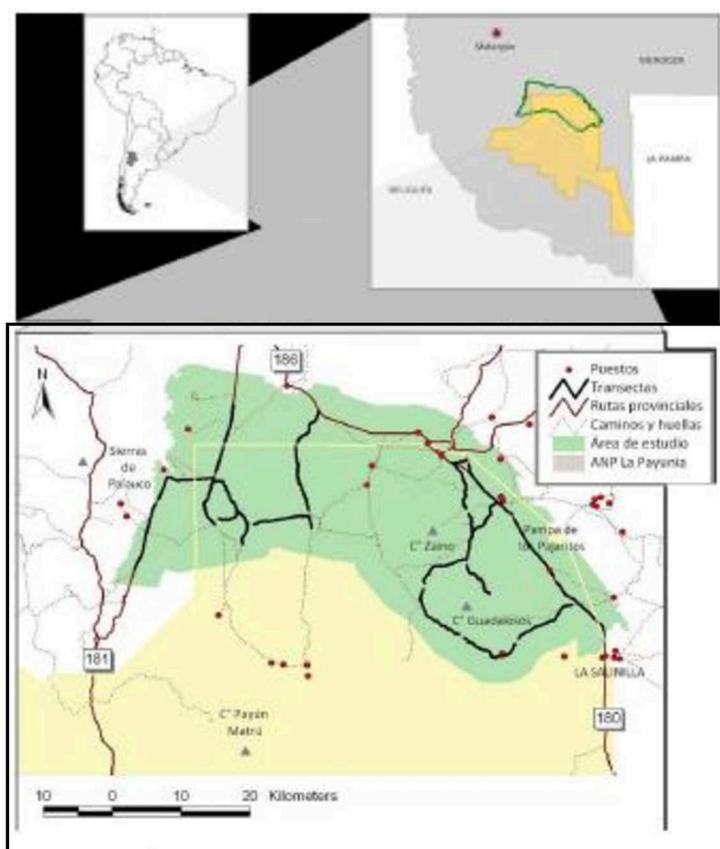


Figura 4.- Ubicación del área de estudio en la provincia de Mendoza, Argentina. Comprende los sectores Noreste, Noroeste y alrededores de la Reserva Provincial La Payunia (adaptado de Schroeder, 2013).

Geológicamente, esta región pertenece a las provincias Sanrafaelino-Pampeana y la Basáltico Andino-Cuyana (zona volcánica sur, Bermúdez y Delpino, 1990), y fue un área de intensa actividad volcánica a partir del Mioceno (Groeber, 1947), con un pico en el Plioceno-Cuaternario (Llambías y col., 2010). Esta intensa actividad volcánica, acompañada por coladas basálticas extensas, con grandes superficies cubiertas por materiales piroclásticos y finalmente sepultadas en distinto grado por arenas eólicas, origina la coexistencia de extensas áreas de vegetación psamófila y saxícola, a veces en intrincados mosaicos, cada uno con su propia dinámica. Florísticamente, en el área convergen, según distintos autores, tres provincias fitogeográficas: Patagónica, Monte y Altoandina. Según Cabrera (1947) la desaparición de las especies de *Larrea* sp. y de *Condalia microphylla* y su reemplazo por cojines de Verbenáceas, Asteráceas y Apiáceas es un indicador del paso de la Provincia del Monte a la Patagónica. El Monte, constituido por matorrales de *Larrea* sp., aparece muy empobrecido en los sectores más bajos (<1450 msnm) o en los piedemontes locales de volcanes y prácticamente bordea a la Payunia; mientras que la Altoandina aparece en las cumbres de volcanes y en el cordón andino hacia el oeste. En términos generales, prevalecen dos fisonomías vegetales: los pastizales en los suelos arenosos más profundos, dominados por *Panicum urvilleanum* acompañado por *Stipa speciosa*, *Sporobolus rigens* y *Poa* sp., y los matorrales tanto en las escorias cubiertas o parcialmente cubiertas por arenas donde predominan *Neosparton aphyllum* acompañado por *Stillingia patagónica*, *Maihueiopsis glomerata*, *Fabiana patagónica*, *Grindelia chilensis*, *Ephedra ochreatea*, *Hyalis argentea*, como las laderas y piedemontes locales de volcanes y cerros, donde a *Neosparton aphyllum* lo acompañan *Larrea divaricata*, *Chuquiraga erinacea* var. *hystrix* y *Anarthrophyllum rigidum* (Candía y col., 1993; Martínez Carretero, 2004). Intensos procesos geológicos, algunos muy recientes, le han conferido a La Payunia características propias. La glaciación y el intenso vulcanismo fueron modificando el relieve, creándose condiciones ecológicas particulares que explicarían el importante número de endemismos que le otorgan un elevado interés biogeográfico y como probable centro de especiación (Ruiz Leal 1955, 1972; Roig 1965, 1998).

La influencia desde el suroeste del anticiclón del Pacífico, que penetra en Argentina en invierno por los 37°S, y la distancia al Atlántico, explican la aridez del sur de Mendoza y norte de Neuquén, así como el origen invernal de sus precipitaciones

(Capitanelli, 1967). La influencia pacífica se manifiesta en los meses invernales, cuando el Anticiclón Semi-permanente del Pacífico se aproxima al continente y el Anticiclón Semipermanente del Atlántico se interna en el océano por el este. Se crea así un centro de baja presión en el sector oriental de los Andes, al cual pertenece la región, que favorece la penetración de las masas de aire desde el Pacífico a través de los diversos pasos montañosos y de menores alturas. Como consecuencia ocurren precipitaciones núbicas y pluviales en invierno (meses de mayo a agosto). Las precipitaciones orográficas puras y las de frente con efecto orográfico, justifican las lluvias de verano y el incremento de las lluvias invernales en el oeste. El sur mendocino y norte de Neuquén pertenecen a lo que climáticamente Capitanelli (1967) denominó Región del Anticiclón del Pacífico con precipitaciones invernales, Subregión de La Payunia con tendencia al frío y árido. En síntesis la región posee un clima mediterráneo atenuado con un equilibrio entre las precipitaciones invernales y las estivales: mientras al Sur de ella rigen las primeras, hacia el Este y Norte, predominan las segundas. La precipitación media anual es de 198 mm, pero con marcada variabilidad inter-anual, con temperaturas medias de 6°C y 20°C en invierno y verano, respectivamente (Candia y col., 1993). Schroeder (2013) analizando los valores del índice EVI (Enhanced Vegetation Index, Huete y col., 2002) máximo, medio, y el coeficiente de variación para la zona de la reserva en el período 2000-2011, determinó que el período de máxima productividad vegetal fue entre febrero y marzo, y el de mínima productividad vegetal estuvo comprendido entre agosto y septiembre.

En la Reserva provincial La Payunia el guanaco es el herbívoro dominante. Esta población es la de mayor tamaño de Cuyo, y las últimas estimaciones poblacionales calculan que está compuesta por 10.000 individuos (Candia y col., 1993; Puig y col., 2003; Baigún y col., 2008). En esta región, Novaro y col. (2006) estudiaron las áreas de acción anual de animales marcados con radio-collar y pudieron establecer que la especie migra estacionalmente. En estudios recientes se pudo demostrar que *L. guanicoe* presenta un patrón espacial y estacional de abundancia en el sector Norte de la reserva (Schroeder, 2013), con una distribución amplia y un máximo número de individuos en primavera-verano (aproximadamente 26.000 animales), y un abrupto descenso en la abundancia en invierno, pudiendo llegar a menos de 4.000 animales por su migración poblacional.

El guanaco ha sido propuesto por la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) como una especie clave para el desarrollo rural de América Latina (FAO, 1985). El uso de la fibra proveniente de individuos vivos es en la actualidad la única alternativa legalmente aceptada. El uso sustentable de ejemplares silvestres podría favorecer la conservación de esta especie (Nugent y col., 2006). Para realizar este aprovechamiento, un grupo de pobladores lindantes a la Reserva Provincial La Payunia ha conformado la Cooperativa de Trabajo Payún Matrú para extraer y utilizar la fibra del guanaco de manera colectiva (Carmanchahi, 2009; Lichtenstein y Carmanchahi, 2012).

Obtención de muestras

Muestras fecales obtenidas a campo

Las campañas de colecta de heces se realizaron en dos períodos de muestreo diferentes. Durante el primero, entre 2009 y 2010, se muestreó estacionalmente, realizando 6 campañas. En el segundo período de muestreo, entre 2011 y 2012, se llevaron a cabo 8 campañas, separadas por 8 semanas entre ellas. El horario de muestreo varió según las estaciones, siendo entre las 8:30 y las 21 horas en primavera y verano, y entre las 9:00 y las 19 horas en otoño e invierno.

Las muestras se colectaron en un área de aproximadamente 1.200 km² correspondiente a la zona norte de la reserva y alrededores, donde existe un gradiente de intensidad de uso ganadero (desde zonas con fuerte presencia de ganado bovino, ovino y caprino, a zonas con ausencia de la actividad) y donde además se encuentra la mayor cantidad de caminos y huellas (Schroeder, 2013) (Figura 4). Las colectas se hicieron recorriendo siempre las mismas transectas, 7 en el sector noreste (NE) y 7 en el sector noroeste (NO), de la reserva (Figura 4). Ambos sectores, NE y NO, se muestrearon con la misma intensidad de muestreo, obteniendo tamaños muestrales equivalentes en cada campaña. Las transectas tuvieron 10 km de largo (en promedio), separadas por 1 km; y se transitaban en camioneta, a una velocidad máxima de 30 km por hora. La menor distancia entre las transectas de los sectores NE y NO fue de aproximadamente 20 km, y la máxima de aproximadamente 70 km. Mientras se recorrían las transectas los guanacos eran observados a ojo desnudo por 2-3 observadores, cuando se detectaba a un animal defecando o adoptando una postura de defecación se detenía la marcha y se lo

observaba con binoculares 10x50 y/o telescopio 15-60 x 60, tomando puntos de referencia para la ubicación de las fecas; y registrando, siempre que la ubicación de los animales lo permitía, la categoría de edad (chulengo, añal, juvenil, adulto), sexo, tipo de grupo social al que pertenecía (solitario, grupo familiar, grupo de solteros, grupo de hembras, grupo mixto), y tamaño de grupo. El sitio de la toma de muestra fue georreferenciado. Se colectaron muestras de cada animal que se observaba en estas condiciones, con un máximo de 5 bosteos por sitio y campaña de muestreo para no tener sitios con mayor representación que otros. Una vez colectada cada muestra, la materia fecal se alicuotó en fracciones para las diferentes técnicas diagnósticas, y se conservó refrigerada a 4°C. Las distintas alícuotas comprendieron: 0,5-1 g para migración de larvas de parásitos pulmonares, 5-10 g para determinación de metabolitos de cortisol fecal (MCF), y 10-20 g para los estudios parasitológicos (diagnóstico y conteo de formas evolutivas de parásitos gastrointestinales, cultivo de larvas, esporulación de ooquistes de coccidios).

Muestras obtenidas en esquilas

Durante el mes de octubre de 2009 y 2010, la Cooperativa de Trabajo Payún Matrú, conformada por pobladores rurales lindantes con la Reserva La Payunia realizó actividades de arreo, esquila y liberación de una parte de esta población de guanacos.

Para realizar las actividades de manejo los guanacos fueron arreados a caballo hacia un corral trampa, que consistió en dos brazos convergentes que formaban un embudo con una apertura distal de 1500 m de ancho (Carmanchahi y col., 2011), y puertas corredizas (de tela media-sombra y red de nylon de pesca que corrían por guías de alambre) en los puntos en que habían 300 m y 50 m de separación entre ambos brazos. El embudo conducía hacia una serie de corrales de pre-encierre, separados por puertas de madera, con superficies decrecientes por corral: corral 1 de 150 m² (3 m × 50 m), corral 2 de 60 m² (3 m × 20 m), y corral 3 de 30 m² (3 × 10 m). El corral 3 conducía a un corral de encierre de paredes de madera, donde 2 o 3 personas capturaban a mano a cada guanaco. Una vez capturado el animal, se le colocó rápidamente una capucha oscura, y se le sujetaron los miembros a una barra extensible que se fijaba a una camilla con ruedas para desplazarlo hasta el sector de esquila y al de procedimientos veterinarios. Luego de ser esquilados con una máquina eléctrica para esquilar ovejas, los

guanacos se trasladaron al sector del examen clínico veterinario donde se registraba información concerniente a: frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura rectal, estado de condición corporal (palpación manual sobre columna vertebral sobre el sector lumbar, condición 1=regular, 2=buena, y 3=muy buena), medidas morfométricas, sexo, edad (por desarrollo de dentición, categorías: añal, juvenil, adulto; Puig y Monje, 1983). En este sector se aprovechó para coleccionar muestras de sangre para obtener suero y plasma, también se extrajo materia fecal del recto.

Antes de liberar a los animales se los identificó con collares de diferentes colores para ambos sexos y caravana numerada, visible con binoculares a una distancia de 500 metros.

Obtención de suero, plasma, y materia fecal durante esquilas

Para obtener este material en las esquilas se procedió a muestrear a los primeros animales que se iban capturando por cada día de esquila. De cada animal se coleccionaron 10 ml de sangre con anticoagulante (heparina) y 10 ml sin anticoagulante, por punción de vena femoral con agujas 18G acopladas a jeringas estériles de 10 ml. La sangre se centrifugó en el campo, durante 15 minutos a 3000 RPM, con una centrífuga portátil a 12 voltios (Mobilespin, Vulcan Technologies, Grandview, Missouri 64030, USA). El suero y plasma obtenido se fraccionó en crioviales que se congelaron en nitrógeno líquido (-196°C) para transportarlos hasta el laboratorio, donde se conservaron a -20°C hasta su procesamiento para mediciones de Anticuerpos Naturales.

El criterio de selección de los animales para extracción de materia fecal fue el mismo que para los que se extrajo sangre. Se intentó extraer materia fecal a todos los mismos animales a los que se les había extraído sangre, pero no siempre se logró porque algunos no tenían cantidad suficiente de materia fecal en la ampolla rectal, o porque en algunos casos la extracción demoraba demasiado y se prolongaban los tiempos de manipulación y liberación. Se extrajo materia fecal directamente del recto, aproximadamente 15-20 g, con bolsas de nylon de 10 x 15 cm, que luego se fraccionaron, rotularon y conservaron a 4°C (para estudios parasitológicos) y a -196°C (para determinaciones hormonales).

Obtención de parásitos adultos del tracto gastrointestinal

Cuando se encontraron animales de muerte reciente, ya sea durante las campañas de muestreo a campo o durante las esquilas, se les realizó la necropsia parasitológica para extraer el tercer compartimiento estomacal (C3) y la primera porción de intestino delgado (dos metros desde la salida de C3, comprendiendo duodeno y parte de yeyuno). Cada sección fue disecada y su contenido lavado con agua y almacenado en solución de formol al 10% en contenedores por separado. A las mucosas de cada sección se les realizó un meticuloso lavaje y raspaje para remover los parásitos adheridos, que se conservaron en solución de formol al 3,5% (Ueno y Gutierrez, 1988). A su vez, se colectaron muestras fecales del recto de los animales muertos para realizar las restantes técnicas parasitológicas.

Estudios parasitológicos

El estudio de la comunidad endoparasitaria de guanacos silvestres, realizado en el Laboratorio de Ecología de Enfermedades (ICIVET-Litoral, dependiente de CONICET-Universidad Nacional del Litoral; Santa Fe) y en el Laboratorio de la cátedra de Parasitología (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral), se abordó mediante la aplicación de técnicas tradicionales, a saber, identificación de formas evolutivas de endoparásitos presentes en materia fecal, esporulación de ooquistes para identificación de género y especie de coccidios, e identificación de parásitos adultos recuperados de tractos GI de animales muertos.

Búsqueda de larvas de parásitos pulmonares

Los CS pueden albergar parásitos del sistema respiratorio del género *Dictyocaulus* (Beldomenico y col., 2003). Los adultos de estos parásitos se encuentran en el árbol respiratorio y tienen la particularidad de eliminar sus huevos con larvas en el primer estadio por medio de las heces, por lo que las técnicas aplicadas para la detección de parásitos GI en materia fecal pueden ser utilizadas para detectar también parásitos pulmonares como esta especie. Para tal fin se realizó una adaptación de la Técnica de migración larvaria de Baermann (Fiel y col., 2011), que aprovecha el hidrotropismo positivo de estadios larvarios de nematodos, y los concentra en agua en la que se sumergen las heces. La técnica consiste en colocar 10 gr de materia fecal extendidos

sobre papel tisú y éste sobre un colador y embudo, al que se coloca agua no clorinada (tibia), se sumerge la muestra hasta dejarla cubierta por agua hasta la mitad del material, se dejan migrar las larvas durante 24 horas para que se concentren en el fondo de un tubo de látex acoplado al embudo. Se abre una pinza que pliega el tubo de látex recogiendo el sedimento en una placa de Petri para hacer la observación al microscopio óptico (MO) en 100 X.

El trabajo a campo mientras se realizó la colecta de materia fecal no permitía una logística de la magnitud necesaria para realizar la migración larvaria de la cantidad de muestras obtenidas por campaña de muestreo, por lo que la técnica se adaptó para recuperar las larvas de parásitos pulmonares sin dejar de cumplir con el fundamento de la técnica original. Para tal fin, cuando se tomaba cada muestra de materia fecal, se pesaba una cantidad de boñigas con balanza digital (precisión 0,1 gr) para lograr un peso de 0,5 - 1 gr y posteriormente calcular la cantidad de larvas por gramo de materia fecal; estas boñigas se envolvían en tela de nylon y se sumergían en tubos Khan que contenían 3 ml de agua destilada. Los tubos preparados de esta manera permanecían toda la noche a temperatura ambiente (en un ambiente calefaccionado cuando las temperaturas eran muy bajas) y a la mañana siguiente se retiraba la materia fecal contenida en el nylon, quedando de esta manera el contenido filtrado en los 3 ml de agua destilada. Esta adaptación del método de Baermann fue validada con heces de ovinos parasitados con *Dictyocaulus filaria* y arrojó resultados satisfactorios. El contenido filtrado se conservó refrigerado a 4°C hasta su observación en MO. Cada muestra, con su identificación correspondiente, contenía la información del peso colectado para realizar los cálculos correspondientes de la cantidad de larvas/gr de materia fecal.

Una vez en el laboratorio, el material obtenido de las migraciones se observaba en cámaras PARFAVE en MO 100 X.

Diagnóstico y Conteos de formas evolutivas

Entre los métodos coproparasitológicos más utilizados para analizar los estadios evolutivos de parásitos presentes en materia fecal de animales silvestres se pueden encontrar:

Métodos cualitativos indirectos: Permiten la concentración de formas evolutivas, por medio de flotación de huevos y ooquistes livianos en soluciones sobresaturadas, o por medio de sedimentación en agua de huevos muy pesados. Este diagnóstico sólo arroja resultados de presencia o ausencia de huevos/ooquistes.

Métodos cuantitativos: Permiten realizar un conteo de los huevos u ooquistes encontrados por unidad de volumen de muestra analizado. El resultado de esta técnica arroja información sobre la intensidad de la parasitosis. Estas técnicas de detección no son tan sensibles como las cualitativas, por lo que un conteo de 0 huevos por gramo (HPG) u ooquistes por gramo (OPG) no puede considerarse como ausencia del parásito adulto en el tracto gastrointestinal.

Métodos cuali-cuantitativos: brindan información sobre la presencia de formas evolutivas y sobre la intensidad del parasitismo. Para que esta técnica sea sensible en su detección y no sobreestime las cargas, las mismas tienen que ser de baja intensidad.

Antes de comenzar a analizar materia fecal de guanacos colectada a campo, se evaluaron muestras de heces de guanacos y llamas provenientes de la Granja Zoológica y Experimental “La Esmeralda” (Santa Fe) para comparar los resultados arrojados por varias técnicas como Flotación directa, Sedimentación-Flotación, Centrifugación-Flotación y Wisconsin modificada, y conocer la técnica que mejores resultados arroje.

La técnica que se escogió para utilizar en el desarrollo de esta tesis fue la técnica de Wisconsin modificada (Cox y Todd, 1962) (Método cuali-cuantitativo por centrifugación-flotación), que se detalla a continuación:

- se desleían 3 gr de materia fecal en 42 ml de agua corriente
- se filtra el contenido en tubos de centrífuga de 15 ml
- se centrifuga durante 2 minutos a 1500 rpm
- se descarta el sobrenadante

- se resuspende el precipitado en Solución de Benbrook (solución sobresaturada de sacarosa, densidad= 1.280) hasta lograr un menisco positivo y se coloca un cubreobjetos
- se centrifuga 2 minutos a 1000 rpm para evitar que se formen burbujas
- se observa en MO y contabilizan las formas evolutivas

El contenido que se obtiene por flotación del tubo de 15 ml es el correspondiente a 1 gr de materia fecal, por lo que el recuento de huevos/ooquistes es el equivalente a HPG/OPG.

Cultivo de larvas

Los huevos de la Superfamilia Trichostrongyloidea, que comprende numerosos géneros y especies, poseen características similares en cuanto a morfología microscópica. Por lo tanto, al encontrar un huevo de esta familia sólo se le puede asignar una forma tipo, pero no la especie a la que pertenece (Fiel y col., 2011). Esto hace necesaria la realización de cultivos larvales ya que las larvas de estadio 3 que eclosionan tienen características diagnósticas de especie.

Las técnicas de cultivo larval consisten en brindarle a los huevos presentes en la materia fecal las condiciones necesarias, básicamente oxígeno y humedad, para permitir que los huevos maduren y eclosionen, desarrollándose las larvas hasta ser infestantes. Una vez eclosionadas, las larvas pueden ser recogidas por migración larval con la técnica de Baermann (Fiel y col., 2011).

El método de cultivo larval que se utilizó en el presente estudio, y que se detalla a continuación, fue desarrollado por Henriksen y Korsholm (1983):

- se necesitan 2 vasos descartables de plástico de 200 ml y 5 cm² de gasa por cada muestra a cultivar
- telgopor granulado
- agua no clorinada (el cloro mata a las larvas): 2 gotas de anticloro de uso para peceras se diluyen en un litro de agua.

- a uno de los vasos se lo corta transversalmente por la mitad, quedando dos segmentos ("B" y "C", figura 5); el otro vaso no necesita modificaciones ("A"). Se hacen varios orificios en el fondo del segmento "B".

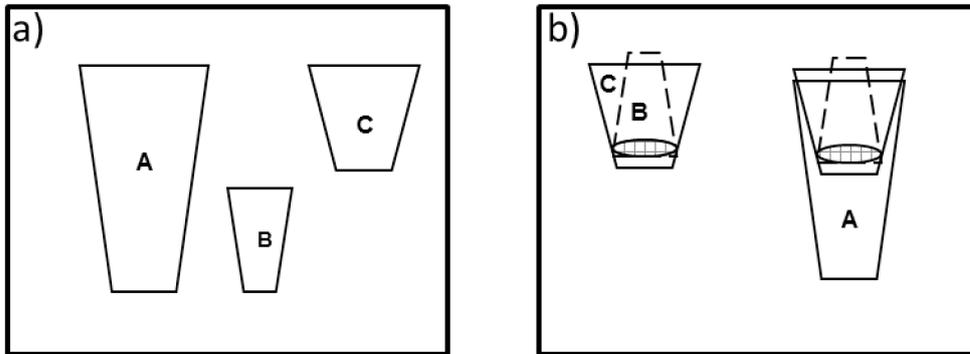


Figura 5.- a) Esquema de corte de vasos plásticos para realizar cultivos larvarios. b) Esquema final de los segmentos acoplados (técnica Henriksen y Korsholm 1983).

- se desleían 2-3 gr de materia fecal con agua no clorada (en cantidad suficiente para lograr una consistencia húmedo-pastosa)
- la pasta obtenida se mezcla con telgopor granulado, en cantidad suficiente para no perder la consistencia pastosa
- la pasta a cultivar se coloca en el segmento "B", identificando la muestra en la cara externa del fondo de la misma (que ha sido perforado). Sobre la boca se fija con cinta un cuadrado de gasa de 5 cm de lado a modo de tapa
- el segmento "B", con la pasta dentro y la tapa de gasa, se acopla, invertido, dentro del segmento "C", procurando que la gasa quede firme y sujete el material a cultivar sin caerse
- finalmente, se introducen ambas mitades acopladas en el vaso "A", que contiene agua en su parte inferior (2 cm) para aportar humedad, procurando que no se moje la gasa
- se incuba el cultivo durante 20 días a 20-22°C, evitando que pierda humedad. Si esto ocurre, agregar unas gotas de agua sin cloro.

- finalizada la incubación, se transfiere el cultivo (segmento “B”) a un vaso cónico y se sumerge en agua tibia libre de cloro. Se deja decantar a temperatura ambiente por 12-24 h.
- para recuperar las larvas infectantes, concentradas en el fondo del vaso cónico, se toman con una pipeta 3-4 ml y se conservan en un tubo en heladera a 4°C hasta su lectura
- se transfiere una alícuota del líquido con larvas a un portaobjetos
- se identifica las larvas en MO

Identificación de huevos de helmintos

La identificación taxonómica de los huevos se realizó siguiendo bibliografía específica, como Ueno y Gutierrez (1988), Leguía (1999), Beldomenico y col. (2003).

Identificación de ooquistes de protozoos

A fines de identificar el género de Eimeriidae actuante, fue necesario realizar la esporulación de los ooquistes:

Se colocó la materia fecal en una caja de Petri, mezclándose con solución de Bicromato de Potasio al 2,5%, y colocándose a temperatura ambiente, el medio se ventilaba varios minutos por día para favorecer la oxigenación y por lo tanto la esporulación.

La identificación taxonómica de los ooquistes se realizó siguiendo las descripciones de Guerrero (1967, 1971), Leguía y col. (1991), y Leguía (1999).

Identificación de Larvas 3 (L3) de nematodes

Una vez obtenidas las larvas de los cultivos, se separaron con micropipetas y se colocaron en portaobjetos para su observación en MO. Se identificaron en base a claves y trabajos de referencia (Niec, 1968; van Wyk y Mayhew, 2013).

Las características morfológicas de las larvas que se utilizaron para el diagnóstico se tomaron de Niec (1968) y se listan a continuación:

- extremo posterior de la larva propiamente dicha (cola larval), para visualizarla es necesario provocar la ecdisis de la larva con solución de hipoclorito de sodio al 5%.
- largo total de la larva (incluyendo la vaina).
- largo de la "cola de la vaina larval" (tomando desde el ano a la extremidad de la vaina larval)
- aspecto de la extremidad posterior de la vaina
- número y forma de las células intestinales

Identificación de nematodos adultos

La identificación de la especie de los nematodos adultos se realizó utilizando claves y descripciones específicas de Ueno y Gutierrez (1988), y Leguía (1999).

Metabolitos de cortisol fecal (MCF)

Al tomar cada muestra en el campo o durante las esquilas, la sub-muestra de 5-10 g destinada a determinación de metabolitos de cortisol fecal (MCF) se conservó a 4°C inmediatamente luego de ser colectada; para ser congelada a -196°C en termo de nitrógeno líquido al final del día. Una vez en laboratorio las mismas se conservaron en freezer de -20°C hasta su liofilización.

Todos los procedimientos de laboratorio para la determinación de MCF se realizaron en las instalaciones del Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU), CONICET, Mendoza.

Liofilización de heces

El material colectado se liofilizó durante 72 horas en liofilizador automático, marca Freezemobile, modelo Freezemobile 12. Las características del liofilizador son: bomba de vacío: 90 litros/minuto, compresor: 1/2 hp, temperatura del condensador: -55°C.

Extracción de hormonas de heces

Una vez liofilizadas, las heces se pulverizaron con molinillo de café eléctrico y se homogeneizaron. Para realizar la extracción hormonal se aplicó una modificación del protocolo de extracción descrito por Superina y col. (2009). A 1 g de materia fecal homogeneizada se lo solubilizó en 10 ml de etanol 90%: agua destilada, luego se agitó en agitador mecánico durante 30 minutos, y al finalizar se centrifugó a 2000 rpm por 20 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se recuperó y el pellet se solubilizó nuevamente en 5 ml de etanol 90%: agua destilada, se agitó por 1 minuto y se centrifugó nuevamente a 2000 rpm por 20 minutos. Ambos sobrenadantes fueron combinados y luego de evaporarlos en estufa a 40°C completamente se redisolviéron en 0,5 ml de metanol. Las muestras se vortexearon luego y diluyeron en 2 ml de buffer PBS, para ser conservadas a -20°C.

Radioinmunoensayo - Determinación de niveles de MCF

En el momento de realizar el RIA, los extractos se descongelaron y centrifugaron a 5000 RPM por 30 minutos y a 4°C para eliminar el material vegetal que pudiera haber quedado luego de la extracción, decantando el extracto purificado en tubos Khan. Para la determinación por RIA de MCF se utilizó un kit comercial de Cortisol I¹²⁵ (Cortisol RIA IM1841, Immunotech; Beckman Coulter). La validación biológica del uso de este mismo kit comercial para monitorear niveles de cortisol en materia fecal de guanacos silvestres fue realizada recientemente por Ovejero (2013). Las determinaciones de MCF de las muestras de esta tesis se realizaron siguiendo las instrucciones del protocolo provisto por el fabricante, con la excepción de dos modificaciones: a cada tubo de la curva estándar se le adicionaron 150 µl de PBS para evitar una reacción con el buffer utilizado en la extracción; y, en lugar de utilizar 50 µl de muestra como indica el protocolo original se evaluaron 200 µl por muestra para igualar el volumen de los tubos de la curva estándar. Las primeras 150 muestras se evaluaron por duplicado, como estos duplicados no arrojaron variaciones los siguientes extractos (561) se evaluaron por uniplicado.

La sensibilidad del ensayo, informada en el protocolo por Beckman Coulter, es de 3,62 ng/ml; el anticuerpo utilizado es altamente específico para cortisol, con el que presenta un reactividad cruzada de 100%. Otros esteroides con los que presenta

reactividad cruzada son prednisolona (18%), corticosterona (8,4%), 21-deoxicortisol (7,5%), deoxicorticosterona (7,3%), prednisona (6%), 17 α -hydroxyprogesterona (3,5%), cortisona (1,5%), y <1% con dexametasona, testosterona, progesterona, androstenediona, colesterol, y estradiol.

Para validar el ensayo se examinó la correlación entre diluciones seriadas de extractos hormonales de materia fecal con PBS (1:2 y 1:4) con la curva estándar del ensayo, obteniendo como resultando un paralelismo entre los extractos puros y sus diluciones con respecto a la curva estándar.

Los coeficientes de variación intra e inter-ensayo fueron de 6,61% y 13% respectivamente.

Evaluación de Anticuerpos Naturales

La determinación de niveles de AN de los guanacos muestreados en las esquilas fue realizada por duplicado mediante un método de hemaglutinación, descrito por Matson y col. (2005), con algunas modificaciones.

Los AN tienen una alta reacción cruzada y ligan con baja afinidad a estructuras de carbohidratos compartidos por una gran variedad de patógenos y células de mamíferos (Murphy, 2011). Por este motivo fue necesario obtener una suspensión de glóbulos rojos (GR) de una especie que exprese altos niveles de α -N acetil-galactosamina (Cotter y col., 2005), como los glóbulos rojos de conejo, que son los que se utilizaron en este estudio. La suspensión de GR de conejo se preparó a partir de sangre entera anticoagulada con EDTA, la cual fue centrifugada a 4000 rpm durante 5 minutos. Los glóbulos rojos se lavaron tres veces con 0,01 M de buffer fosfato salino (PBS 1x) y se ajustó a una concentración final de células del 1,2 %. La suspensión de GR fue utilizada durante un periodo no mayor a 24 horas y almacenada a 4°C.

Para el ensayo de hemaglutinación se utilizaron microplacas de 96 pocillos con fondo en forma de U (DELTA Lab). Fueron añadidos 25 μ l de PBS 1x (Sigma Aldrich) a los pocillos de la columna 2 a la 11 y 25 μ l de cada muestra de suero o plasma se añadieron a las columnas uno y dos. Luego se hicieron diluciones seriadas al medio en PBS mediante la transferencia de 25 μ l con un microdiluidor de un pocillo al consecutivo empezando por la columna dos y hasta la 11, dejando así el pocillo 12

como control negativo (PBS solo). Una vez realizadas las diluciones correspondientes se agregaron a todos los pocillos 25 µl de la suspensión de GR de conejo homogeneizada. Luego se agitaron las placas mecánicamente por unos segundos y se incubaron 2 h a temperatura ambiente. La aglutinación resultó de la acción de los AN. El título fue registrado como \log_2 de la última dilución en la que se evidenciaba claramente la aglutinación (Diluciones: 0; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128; 1:256; 1:512; 1:1024; 1:2048).

Se realizaron pruebas para comparar los niveles de aglutinación de suero y plasma del mismo animal (n=6) y no se hallaron diferencias en los títulos de aglutinación. Esto permitió realizar el ensayo de hemaglutinación utilizando principalmente las muestras de suero, y sólo cuando éstas no fueron suficientes para réplicas o cuando el suero estaba hemolizado se utilizó el plasma.

Datos de condiciones climáticas

Los datos de condiciones climáticas fueron provistos por la Dirección de Recursos Naturales Renovables (Secretaría de Ambiente del Gobierno de la Provincia de Mendoza). En la seccional de guardaparques Los Volcanes, Reserva Provincial La Payunia, está instalada una estación meteorológica que registra datos de temperatura, humedad y precipitaciones cada 30 minutos. La base de datos del período comprendido entre el 27 de marzo de 2009 y el 20 de octubre de 2013 fue procesada para calcular los promedios estacionales de temperatura, temperaturas máxima y mínima absoluta (°C), humedad relativa promedio (%) y precipitaciones acumuladas (mm).

Análisis estadísticos

El enfoque estadístico general consistió en el uso de modelos multivariados. En la mayoría de los modelos las respuestas fueron abundancia parasitaria (incluye ceros), en otros la variable respuesta fueron los niveles de metabolitos de cortisol fecal, y en otros los niveles anticuerpos naturales.

El tipo de modelo a utilizar se decidió en base a la distribución de la variable respuesta. Cuando la distribución de la respuesta se aproximó a la distribución normal o podía ser transformada para aproximarla a la normalidad por transformación logarítmica se utilizó un Modelo Lineal (LM, “Linear model” por sus siglas en inglés).

Para los conteos parasitarios, que mostraron un patrón de distribución agregado, se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM, “*General linear model*” por sus siglas en inglés) y Modelos Lineales Mixtos Generalizados (GLMM, “*Generalized linear mixed model*” por sus siglas en inglés) con respuesta binomial negativa.

Los modelos se ejecutaron utilizando el software R v.2.14.0 (R Development Core Team, 2012), y sus paquetes lme4 (función lmer), languageR (función pvals.fnc), y glmmADMB.

Para evaluar interacciones parasitarias se condujeron dos grupos de análisis, utilizando datos de muestras fecales obtenidas a campo se intentó identificar asociaciones entre los diferentes parásitos, y usando datos de muestras colectadas del recto durante esquilas (muestras rectales) se evaluó si las asociaciones persistían cuando se consideraron características del hospedador. El análisis que utilizó muestras de campo tiene la ventaja de tener un tamaño muestral mayor, y como consecuencia mayor poder estadístico, pero con potencial para enmascarar y modificar efecto, ya que la información disponible para estos datos sólo permitió controlar por transecta y campaña de muestreo. Para tener en cuenta esta falta de independencia entre muestras de la misma campaña de muestreo o de la misma transecta se usaron GLMM, con “campaña” o “transecta” como efecto al azar. También se incluyeron interacciones de dos vías entre el tipo de parásitos y el año o estación para probar la hipótesis que la asociación entre parásitos puede variar estacionalmente o depender de condiciones climáticas ambientales prevalecientes en ese año. El análisis conducido usando datos de muestras rectales, con información sobre características del hospedador (que permitió controlar su influencia en las relaciones entre parásitos), es más conservador porque el limitado tamaño muestral de datos rectales podría reducir las chances de detectar una asociación significativa verdadera. Para este tipo de muestras se utilizó GLM, y a pesar de la variable independiente de interés (abundancia de un tipo de parásito dado) los modelos incluyeron factores ambientales y del hospedador, a saber condición corporal, categoría etaria, sexo, año de muestreo, y estación.

Para evaluar asociaciones entre niveles de MCF y carga parasitaria, y entre niveles de AN y carga parasitaria de especies seleccionadas, se usaron LMM y LM respectivamente.

En todos los modelos analizados en la tesis la remoción de términos no significativos se realizó utilizando tests de índices de probabilidad.

RESULTADOS

Muestras obtenidas

Muestreos fecales a campo

Se realizaron 14 campañas de muestreo a campo, que representaron el otoño de 3 años (2009, 2010, y 2012), el invierno de 3 años (2009, 2011, y 2012), primavera de 1 año (2012) y el verano de 2 años (2010 y 2012). De las 14 campañas realizadas, 7 pertenecieron a cada período de muestreo, y tuvieron un promedio de 5 días cada una.

En total se colectaron a campo 688 muestras de materia fecal (Tabla 2). El promedio de muestras colectadas por campaña en el primer período de muestreo fue de 42, mientras que en las campañas del segundo período fue de 54 muestras.

Tabla 2.- Esquema de períodos y estaciones representadas en los muestreos de campo y de esquilas, con el número total de muestras obtenidas (n=763).

	Campaña (n)	Estación (n)
Primer período muestreo (2009-2010)	Mayo 2009 (30)	Otoño 2009 (30)
	Junio 2009 (32)	Invierno 2009 (67)
	Setiembre 2009 (35)	
	Octubre 2009 (35) - esquila	Primavera 2009 (35)
	Febrero 2010 (49)	Verano 2010 (49)
	Abril 2010 (37)	Otoño 2010 (37)
	Octubre 2010 (40) - esquila	Primavera 2010 (114)
	Noviembre 2010 (74)	
Segundo período muestreo (2011-2012)	Setiembre 2011 (48)	Primavera 2011 (102)
	Diciembre 2011 (54)	
	Marzo 2012 (56)	Verano 2012 (56)
	Abril 2012 (55)	Otoño 2012 (55)
	Junio 2012 (55)	Invierno 2012 (107)
	Agosto 2012 (52)	
	Octubre 2012 (59)	Primavera 2012 (111)
	Diciembre 2012 (52)	

Se relevaron 14 transectas en cada campaña (7 sector NE y 7 sector NO), con un promedio de 49 muestras por transecta.

Las heces de todo el muestreo de campo representaron a 116 machos, 65 hembras, y de 507 no se pudo determinar el sexo. Con respecto a la categoría de edad, 496 muestras fueron de animales adultos, 30 de juveniles, 30 de añales, 59 de chulengos, y de 73 muestras no se pudo obtener información concerniente a la edad.

La distribución de las muestras con respecto a los distintos tipos de grupo social se detalla a continuación: 44 fueron de animales de grupos familiares, 46 de guanacos solteros, 24 de animales pertenecientes a grupos de hembras, 230 de animales en grupos mixtos, 75 de guanacos solitarios, y de 269 no se pudo determinar el tipo de grupo al que pertenecía el animal que defecó.

El tamaño de los grupos sociales de los que se colectaron muestras varió de 1 individuo solitario, a 301 individuos en un grupo mixto. La cantidad promedio de individuos por tipo de grupo social fue de 7 (DE=3) en grupos familiares, de 8 (DE=6) en grupos de hembras, 20 (DE=17) en grupos de solteros, y de 93 (DE=67) en grupos mixtos.

Muestreos en esquilas

Sangre, suero y plasma de guanacos esquilados

En total se colectaron 112 muestras de sangre entre las esquilas de 2009 y 2010.

Las muestras de sangre obtenidas en esquilas del año 2009 (n=79) comprendieron a 77 machos y 2 hembras. De estas muestras, 61 fueron de individuos adultos, 9 de juveniles, y 9 de añales. La condición corporal de 11 animales muestreados fue regular, en 57 animales fue buena, y en los 11 guanacos restantes fue muy buena.

De las muestras de esquilas del año 2010 (n=33), la sangre colectada fue sólo de machos; y de éstos, 19 fueron adultos, 10 juveniles, y 4 añales. Uno de estos guanacos tuvo condición corporal regular, 17 tuvieron buena condición, y 15 tuvieron una condición corporal muy buena.

Materia fecal de guanacos esquilados

Las muestras obtenidas en esquilas del año 2009 (n=33) comprendieron heces de 23 machos y 10 hembras. De estas muestras, 28 fueron de individuos adultos, 4 de juveniles, y 1 de un añal. La condición corporal de 6 de estos guanacos fue regular, en 20 animales fue buena, y en los 7 guanacos restantes fue muy buena.

En esquilas del año 2010 (n=36) se colectaron fecas de 29 machos y de 7 hembras; de estas muestras, 25 fueron de adultos, 6 de juveniles, y 5 de añales. De estos guanacos, 19 tuvieron condición corporal buena, y 17 condición muy buena.

Tractos GI de animales de muerte reciente

Se obtuvieron tractos GI de 7 animales de muerte reciente. De estos animales, 5 machos adultos murieron en distintos arreos para las esquilas (3 murieron por lesiones al impactar contra la estructura de la manga y 2 debieron ser eutanasiados por lesiones graves). Otro guanaco adulto, macho, se encontró atropellado a la orilla de uno de los caminos; y una hembra adulta fue cazada por un puma en el momento que se recorría una transecta.

Condición meteorológica en Payunia entre 2009 y 2012

La temperatura estacional promedio en la Payunia, en el período de estudio, se mantuvo entre 8°C y 10°C en los otoños, entre 3°C y 5°C en los inviernos, entre 13°C y 14°C en las primaveras, y en veranos la temperatura estacional promedio estuvo entre los 17°C y 18°C (Figura 8).

La temperatura máxima absoluta estacional osciló en un rango de 22,7°C (invierno de 2011) a 34,7°C (verano de 2010) (Figura 8).

La temperatura mínima absoluta más baja fue de -16,1°C (invierno de 2010), mientras que en el resto de los inviernos la temperatura mínima absoluta osciló entre los -11°C y -13°C. A su vez, la temperatura mínima absoluta estacional de casi todas las estaciones fue inferior a 0°C, con excepción de los veranos, en los que las mínimas absolutas fueron 3,1°C (2010), 1,6°C (2011), y 1,5°C (2012) (Figura 8).

En 2 estaciones del período comprendido entre otoño de 2009 y primavera de 2012 las precipitaciones estacionales acumuladas fueron superiores a los 50 mm. Esta condición se dio en otoño de 2012 (117,9 mm), y primavera de 2012 (76,2 mm) (Figura 9).

La humedad relativa promedio por estación se mantuvo, casi en su totalidad, en un rango de 40% y 50%. En primavera de 2009 la humedad relativa promedio fue inferior a este rango (28,8%); mientras que en invierno de 2009 (69,8%) y otoño de 2012 (57,2%) la humedad relativa promedio fue mayor al rango mencionado (Figura 9).

Resultados parasitológicos descriptivos

Comunidad parasitaria de población de guanacos de La Payunia

La integración de los resultados de las técnicas de cultivo larvario, esporulación de coccidios, identificación de nematodos adultos, y del diagnóstico de los huevos y ooquistes encontrados en materia fecal permitió confirmar la presencia de 11 especies de parásitos gastrointestinales; entre ellas, 5 nematodos: 2 especies de *Nematodirus* spp., 1 de *Trichuris* sp., 1 de *Capillaria* sp., 1 compatible con *Strongyloides* sp.; 1 especie de cestode: *Moniezia* cf. *benedeni*; y 5 especies de protozoos: *Eimeria lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis* y *E. ivitaensis*.

Larvas de parásitos pulmonares

La técnica de migración de larvas pulmonares adaptada se aplicó en 380 muestras (desde el inicio del muestreo hasta la campaña de setiembre de 2011), sin detectar ninguna larva, por lo que en los muestreos posteriores no se colectó material para detectar este tipo de parásitos.

Larvas de nematodos de cultivos fecales

La observación de larvas obtenidas en cultivos fecales permitió determinar la presencia de dos especies de nematodos del género *Nematodirus* (compatibles con *N. spathiger* y con *N. helvetianus*). Sin embargo, debido a que la abundancia parasitaria se analizó por medio de conteos de huevos en materia fecal, que no permiten diferenciar entre estas dos especies, en los análisis estadísticos la abundancia considerada fue la del género, incluyendo a ambas especies en el mismo taxón.

Nematodos adultos de tractos gastrointestinales

A través de la evaluación de los tractos GI de animales muertos se pudieron coleccionar parásitos adultos de los géneros *Nematodirus* (machos y hembras) y *Capillaria* (machos).

Formas parasitarias en diagnóstico y conteo parasitológico

Se analizó un total de 756 muestras fecales (colectadas a campo, n=680; en esquilas, n=69; y de guanacos de muerte reciente, n=7) con las técnica de Wisconsin modificada.

Los huevos y ooquistes de parásitos encontrados en materia fecal pertenecieron a los géneros *Eimeria*, *Nematodirus*, *Trichuris*, *Moniezia*, *Capillaria*, y compatibles con *Strongyloides* (Figuras 6 y 7); los dos primeros fueron los que prevalecieron ampliamente.

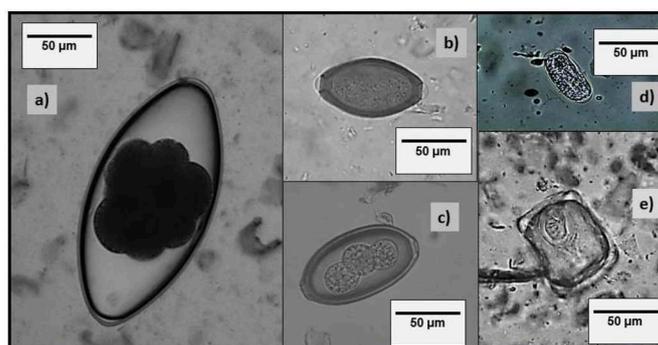


Figura 6.- Huevos de las especies de parásitos helmintos encontrados en heces de guanacos de La Payunia. a) *Nematodirus* spp., b) *Trichuris* sp., c) *Capillaria* sp., d) huevo compatible con *Strongyloides* sp. y e) *Moniezia* cf. *benedeni*.

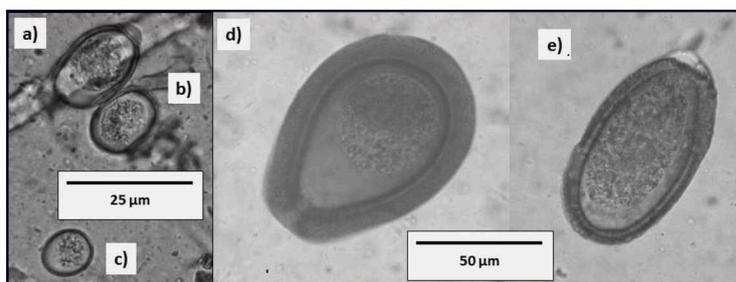


Figura 7.- Ooquistes de las especies de coccidios encontrados en materia fecal de guanacos de La Payunia. a) *Eimeria lamae*, b) *E. alpaca*, c) *E. punoensis*, d) *E. macusaniensis* y e) *E. ivitaensis*.

Riqueza parasitaria de población de guanacos de La Payunia

El 15,61% (n=118) de todas las muestras fecales colectadas (a campo, de esquilas, y de guanacos muertos) no tuvieron evidencia de presencia parasitaria, distribuidas estacionalmente de la siguiente manera: 24 en otoño (2009=5; 2010=9; 2011=10); 18 en invierno (2009=11; 2012=7); 51 en primavera (2010=16; 2011=21; 2012=14); y 25 en verano (2010=13; 2012=14).

En el 84,39% restante (638 muestras), se encontró al menos una de las especies parasitarias. Las muestras de 270 individuos (35,71%) tuvieron una sola especie; 213 (28,17%) tuvieron formas evolutivas de dos especies parásitas, 112 muestras (14,81%) con presencia de 3 especies de parásitos, 40 (5,30%) con 4 especies, y la mayor riqueza parasitaria, que fue de 5 especies de parásitos, se encontró en heces de 3 guanacos (0,40%).

Dinámicas de prevalencias e intensidades de la comunidad parasitaria GI

Nematodirus spp., *Eimeria* spp. y *E. macusaniensis* son las que cuentan con mayores prevalencias e intensidades a lo largo del año.

La prevalencia estacional de *Nematodirus* spp. tuvo el pico máximo en primavera de 2009 (74,29%; n=35), y la mínima prevalencia en otoño de 2012 (16,36%; n=55). La intensidad media (IM) fue de 1,75 HPG (DE=3,52 HPG; $I_{m\acute{a}x.}=383$ HPG) para *Nematodirus* spp. en todo el muestreo.

El pico máximo en la prevalencia estacional de *Eimeria* spp. fue de 74,77% (invierno de 2012, n=106), mientras que la mínima fue 36,67% (otoño de 2009, n=30). La IM de *Eimeria* spp. fue de 98,47 OPG (DE=435,23 OPG; $I_{m\acute{a}x.}=5724$ OPG) para todo el muestreo.

A su vez, la prevalencia máxima de *E. macusaniensis* fue de 45,71% (primavera de 2009, n=35), y la mínima de 15,53% (primavera de 2011, n=103). La IM de esta especie fue 11,36 OPG (DE=83,30 OPG; $I_{m\acute{a}x.}=1686$ OPG) para todo el muestreo.

Trichuris sp. estuvo representada durante todas las estaciones, con una prevalencia máxima de 20,72% (primavera de 2012, n=111), y una mínima de 8,96%,

en invierno de 2009 (n=67). La IM fue de 0,31 HPG (DE=1 HPG; $I_{m\acute{a}x.}=15$ HPG) para todo el muestreo.

Capillaria sp., que también estuvo presente en todas las estaciones, tuvo la máxima prevalencia en otoño 2009, con 20% (n=30); y la mínima, de 1,82%, en otoño de 2012 (n=55). La IM de Capillaria sp. para todo el muestreo fue de 0,15 HPG (DE=1,39 HPG; $I_{m\acute{a}x.}=32$ HPG) .

Las prevalencias estacionales para las especies de helmintos y coccidios se observan en las figuras 10 y 11 respectivamente.

Los ooquistes de Eimeria ivitaensis no se encontraron en todas las estaciones de muestreo. Sólo estuvieron presentes en otoño de 2012 (prevalencia=1,82%, n=55) y en invierno de 2012 (prevalencia=1,87%, n=106); tuvieron una IM de 1,72 OPG (DE=31,51; $I_{m\acute{a}x.}=652$ OPG) para todo el muestreo.

Moniezia cf benedeni tampoco se encontró en todas las estaciones de muestreo. Huevos de esta especie se detectaron en verano de 2010 (prevalencia=2,04%, n=49), primavera de 2011 (prevalencia=2,91%, n=103), verano de 2012 (prevalencia=7,14%, n=56), invierno de 2012 (prevalencia=2,80%, n=106), y primavera de 2012 (prevalencia=1,80%, n=111); con IM de 2,85 HPG (DE=26,44 HPG, $I_{m\acute{a}x.}=385$ HPG) para todo el muestreo.

Los huevos compatibles con Strongyloides sp. sólo se encontraron en primavera de 2012, con una prevalencia de 3,6% (n=111), y una IM de 0,22 HPG (DE=5,37 HPG; $I_{m\acute{a}x.}=148$ HPG) para todo el muestreo.

Las tablas 3 y 4 muestran los valores de prevalencia estacional de cada especie de parásito con un intervalo de confianza de 95%, y sus dinámicas estacionales se grafican en las figuras 10 y 11.

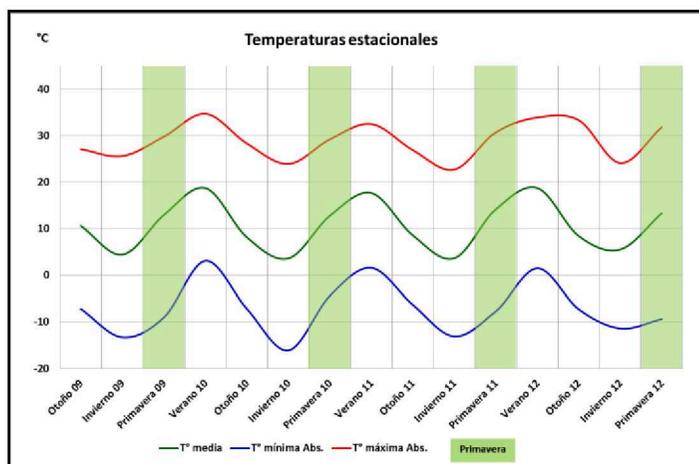


Figura 8.- Temperaturas promedio, mínima absoluta, y máxima absoluta estacionales de La Payunia en el período 2009 – 2012.

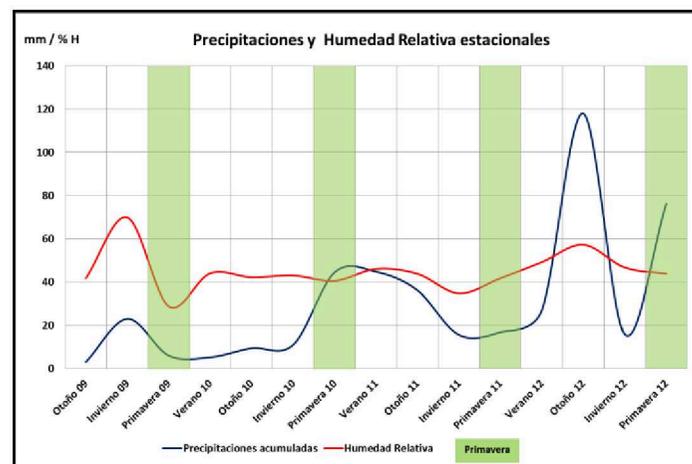


Figura 9.- Humedad promedio y precipitaciones acumuladas estacionales de La Payunia en el período 2009 – 2012.

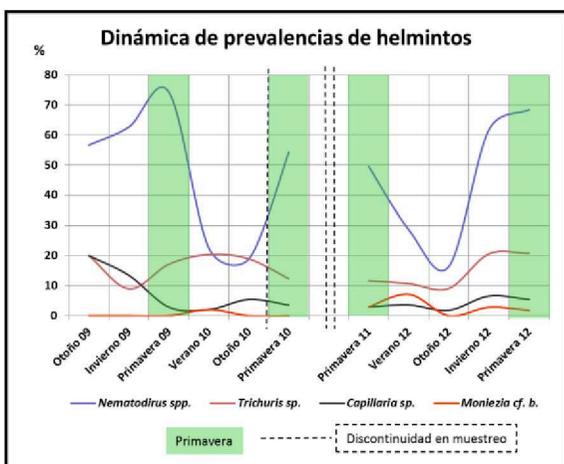


Figura 10.- Dinámicas estacionales de las prevalencias de especies de helmintos que parasitan a guanacos de La Payunia.

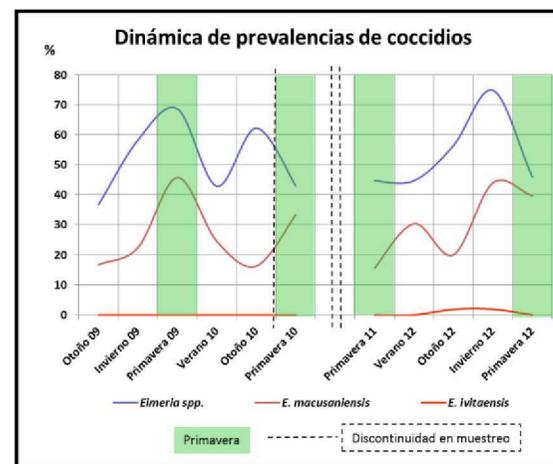


Figura 11.- Dinámicas estacionales de prevalencias de coccidios en guanacos silvestres de La Payunia.

Tabla 3.- Prevalencias estacionales de helmintos de guanacos de la Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).

	Estación	n	Nematodirus spp.	LS	LI	Trichuris sp.	LS	LI	Capillaria sp.	LS	LI	Strongyloides sp.	LS	LI	Moniezia cf. b.	LS	LI
Primer período de muestreo	Otoño 2009	30	56,67	74,40	38,93	20,00	34,31	5,69	20,00	34,31	5,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Invierno 2009	67	62,69	74,27	51,11	8,96	15,79	2,12	13,43	21,60	5,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Primavera 2009	35	74,29	88,77	59,81	17,14	29,63	4,66	2,86	8,38	-2,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Verano 2010	49	22,45	34,13	10,77	20,41	31,69	9,12	2,04	6,00	-1,92	0,00	0,00	0,00	2,04	6,00	-1,92
	Otoño 2010	37	18,92	31,54	6,30	18,92	31,54	6,30	5,41	12,69	-1,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Primavera 2010	113	54,39	63,53	45,24	12,28	18,31	6,26	3,51	6,89	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Segundo período de muestreo	Primavera 2011	101	49,51	59,17	39,86	11,65	17,85	5,45	2,91	6,16	-0,33	0,00	0,00	0,00	2,91	6,16	-0,33
	Verano 2012	55	28,57	40,40	16,74	10,71	18,82	2,61	3,57	8,43	-1,29	0,00	0,00	0,00	7,14	13,89	0,40
	Otoño 2012	51	16,36	26,14	6,59	9,09	16,69	1,49	1,82	5,35	-1,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Invierno 2012	107	61,68	70,89	52,47	20,56	28,22	12,90	6,54	11,23	1,86	0,00	0,00	0,00	2,80	5,93	-0,32
	Primavera 2012	111	68,47	77,11	59,82	20,72	28,26	13,18	5,41	9,61	1,20	3,60	7,07	0,14	1,80	4,28	-0,67
Prevalencia general		756	50,66	--	--	15,48	--	--	5,56	--	--	--*	--	--	1,72	--	--

*No calculado por estar presente en una sola estación del muestreo.

LS: Límite superior; LI: Límite inferior.

Tabla 4.- Prevalencias estacionales de coccidios de guanacos de la Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).

	Estación	n	Eimeria spp.	LS	LI	E. macusaniensis	LS	LI	E. ivitaensis	LS	LI
Primer período de muestreo	Otoño 2009	30	36,67	53,91	19,42	16,67	30,00	3,33	0,00	0,00	0,00
	Invierno 2009	67	58,21	70,02	46,40	22,39	32,37	12,41	0,00	0,00	0,00
	Primavera 2009	35	68,57	83,95	53,19	45,71	62,22	29,21	0,00	0,00	0,00
	Verano 2010	49	42,86	56,71	29,00	24,49	36,53	12,45	0,00	0,00	0,00
	Otoño 2010	37	62,16	77,79	46,53	16,22	28,09	4,34	0,00	0,00	0,00
	Primavera 2010	113	42,98	52,07	33,89	33,33	41,99	24,68	0,00	0,00	0,00
Segundo período de muestreo	Primavera 2011	101	44,66	54,26	35,06	15,53	22,53	8,54	0,00	0,00	0,00
	Verano 2012	55	44,64	57,66	31,62	30,36	42,40	18,31	0,00	0,00	0,00
	Otoño 2012	51	56,36	69,47	43,26	20,00	30,57	9,43	1,82	5,35	-1,71
	Invierno 2012	107	74,77	83,00	66,54	43,93	53,33	34,52	1,87	4,44	-0,70
	Primavera 2012	111	45,95	55,22	36,67	39,64	48,74	30,54	0,00	0,00	0,00
Prevalencia General		756	52,91	--	--	30,03	--	--	--*	--	--

*No calculado por estar presente sólo en dos estaciones del muestreo.

LS: Límite superior; LI: Límite inferior.

Análisis de metabolitos de cortisol fecal de guanacos

Se analizó por RIA un total de 711 muestras (42 de esquilas y 669 de campo). La proporción de sexos para estas muestras fue: 149 de machos, 69 de hembras, y no se pudo determinar el sexo de 493. A su vez, de todas estas muestras, 504 fueron de guanacos adultos, 34 de juveniles, 33 de añales, 59 de chulengos, y de 81 no se pudo determinar la edad.

Análisis de MCF de heces colectadas a campo

En el análisis de niveles de MCF no se encontraron diferencias significativas entre sexos ($p=0,23$).

En cuanto a la edad, los niveles de MCF de guanacos adultos no fueron diferentes de los de juveniles ($p=0,19$), añales ($p=0,38$), ni chulengos ($p=0,45$).

Los niveles de MCF en heces de guanacos de grupos de solteros y de individuos solitarios fueron significativamente mayores que los de los grupos familiares ($p=0,001$; y $p=0,02$, respectivamente). No hubieron diferencias significativas entre niveles de MCF de animales de grupos familiares y los de grupos mixtos ($p=0,39$), ni con los de grupos de hembras ($p=0,18$). A su vez, no se encontraron asociaciones entre el tamaño de grupo social del individuo con sus niveles de MCF ($p=0,47$).

El sector de la reserva donde habitaba el animal muestreado tuvo asociación con los niveles de MCF, ya que los animales que se muestrearon en el sector NO tuvieron niveles significativamente mayores que los del sector NE ($p=0,023$).

En la tabla 5 se resumen los niveles promedio de MCF para los muestreos de cada estación. La dinámica estacional de los mismos se encuentra graficada en la Figura 15.

Al analizar los niveles de MCF de muestras colectadas a campo se encontraron diferencias significativas entre los diferentes años de muestreo, siendo los niveles de muestras colectadas en 2011 significativamente menores ($p=0,0002$) que los de muestras de los años 2009, 2010, y 2012.

Tabla 5.- Niveles promedio de MCF (ng/g) por estación de muestreo, y límites inferior y superior de intervalos de confianza de 95%.

Período	Estación	n	Cortisol fecal	LI	LS
Primer período de muestreo	Otoño 2009	30	6,74	5,39	8,09
	Invierno 2009	67	7,70	7,09	8,32
	Primavera 2009	5	12,40	10,53	14,26
	Verano 2010	47	7,17	6,34	8,01
	Otoño 2010	37	6,59	5,75	7,42
	Primavera 2010	110	8,14	7,43	8,86
Segundo período de muestreo	Primavera 2011	100	5,08	4,51	5,65
	Verano 2012	53	4,52	3,73	5,31
	Otoño 2012	53	3,48	2,88	4,08
	Invierno 2012	100	5,01	3,56	6,45
	Primavera 2012	109	6,32	5,61	7,03
		711			

Los niveles de MCF tuvieron una marcada estacionalidad, siendo los de primavera (coef.=0,35±0,24; p=0,002) significativamente mayores que los de otoño (Tabla 6). A su vez, los niveles de cortisol de todas las estaciones del período 2011-2012 fueron significativamente menores que los del período de muestreo 2009-2010 (coef.=0,56±0,175; p<0,01).

Tabla 6.- Modelo lineal mixto que describe la variación estacional de los niveles de metabolitos de cortisol fecal (ng/g) (N=711).

Término	Coefficiente	LI^c	LS^c	p valor
Modelo niveles de cortisol y estacionalidad.				
log(cortisol) ~ estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,30	2,00	2,60	<0,01
Estación (invierno) ^a	0,20	-0,06	0,46	0,10
Estación (primavera) ^a	0,35	0,12	0,60	0,002
Estación (verano) ^a	0,15	-0,16	0,45	0,29
Período (2) ^b	-0,56	-0,73	-0,38	<0,01

^a Contrastes Simples - estación de referencia: otoño.

^b Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^c Límites inferior y superior de intervalo de confianza de 95%.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia. p-valores obtenidos por Markov chain Monte Carlo samples (función pvals.fnc de R).

Análisis de MCF de heces rectales colectadas en esquilas

En cuanto a los niveles de MCF de animales esquilados, no se encontraron diferencias significativas entre guanacos adultos y de las restantes categorías de edad (juveniles p=0,11; añales p=0,27).

A su vez, los MCF de guanacos esquilados no tuvieron asociación con la condición corporal del animal (p=0,57).

El análisis de correlación entre MCF de animales esquilados y sexo no se pudo realizar por el gran desbalance entre muestras de ambos sexos analizadas por RIA (machos n=34, hembras n=2).

Por otro lado, las muestras de heces obtenidas en esquilas tuvieron niveles de MCF significativamente mayores que las obtenidas a campo (p=0,048).

Anticuerpos Naturales circulantes en guanacos

Se pudieron analizar 110 muestras por medio de hemaglutinación para detectar títulos de AN de los guanacos. Hubieron animales cuyos niveles fueron indetectables (n=7), títulos detectables hasta dilución 1:2 (n=31), títulos detectables hasta dilución 1:4 (n=44), títulos detectables hasta dilución 1:8 (n=20), títulos detectables hasta dilución 1:16 (n=6), títulos detectables hasta dilución 1:32 (n=0), títulos detectables hasta

dilución 1:64 (n=1), títulos detectables hasta dilución 1:128 (n=0), y el mayor título de AN que se detectó fue hasta la dilución 1:256 (n=1). La mediana de los títulos de AN para las 110 muestras se encontró en la dilución 1:4.

Los títulos de AN no tuvieron asociación con la clase de edad del animal (adultos $p=0,15$; juveniles $p=0,46$; añales $p=0,17$). Tampoco se encontró asociación entre niveles de AN con la condición corporal del animal ($p=0,89$). El análisis para correlacionar los niveles de AN con el sexo del individuo no se pudo realizar por el gran desbalance entre muestras de ambos sexos (machos $n=109$, hembras $n=1$), al igual que sucedió con la correlación entre sexo y MCF de animales esquilados.

Los niveles de AN de los guanacos esquilados en el año 2009 fueron significativamente mayores que los del año 2010 ($p=0,035$).

Análisis de factores extrínsecos e intrínsecos del hospedador como determinantes de abundancia parasitaria

Para realizar los análisis estadísticos de los factores extrínsecos e intrínsecos de abundancia parasitaria GI se utilizaron los conteos de huevos y ooquistes por gramo de todas las muestras fecales colectadas a campo, en esquilas, y de animales muertos ($n=756$).

Factores determinantes de abundancia de Nematodirus spp.

Para la abundancia de parasitismo de *Nematodirus* spp., analizando el efecto de la estación y período de muestreo, y controlando por campaña como efecto al azar, se encontró que las abundancias de verano fueron significativamente menores que las de invierno (coef.= $1,571\pm 0,476$; $p<0,001$) y primavera (coef.= $1,469\pm 0,443$; $p<0,001$). En otoño las abundancias también fueron mayores que las de verano, pero esta diferencia no llegó a ser significativa (coef.= $0,908\pm 0,506$; $p=0,073$) (Tabla 7).

Los animales del sector NE de la reserva tuvieron abundancias de *Nematodirus* spp. significativamente menores (coef.= $-0,559\pm 0,065$; $p<0,001$) que los del sector NO de La Payunia.

No se encontraron asociaciones entre la abundancia de *Nematodirus* spp. con el sexo, categoría de edad, ni condición corporal del animal. A su vez, tampoco hubieron

asociaciones entre la abundancia de *Nematodirus* spp. con el tipo y tamaño del grupo social del guanaco.

Tabla 7.- Modelo lineal generalizado mixto que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de *Nematodirus* spp. por gramo (HPG) de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).

Término	Coefficiente	ES	p valor
Modelo Determinantes HPG <i>Nematodirus</i> spp.			
Nematodirus ~ estación + sector intercepto al azar: campaña de muestreo			
Intercepto	-0,618	0,397	0,120
Estación (otoño) ^a	0,908	0,506	0,073
Estación (invierno) ^a	1,571	0,476	<0,001
Estación (primavera) ^a	1,469	0,443	<0,001
Sector (NE) ^b	-0,559	0,065	<0,001

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - sector de referencia: NO.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Factores determinantes de abundancia de *Trichuris* sp.

La abundancia de *Trichuris* sp. estuvo afectada por la estación, siendo la abundancia de primavera significativamente menor que la de verano (coef.= -0,826±0,386; p=0,032). No se encontraron asociaciones entre la abundancia de *Trichuris* sp. con el sexo, categoría de edad, ni condición corporal, así como tampoco hubo asociación con el tipo y tamaño del grupo social del animal. Sin embargo, en primavera hubo una interacción con la categoría etaria chulengo, con abundancias para esta estación significativamente mayores que en las demás (coef.=3,296±1,487; p=0,027) (Tabla 8).

En las figuras 12; 13 y 14 se observan las dinámicas estacionales de intensidad media de las especies de helmintos y coccidios que parasitan a guanacos de La Payunia.

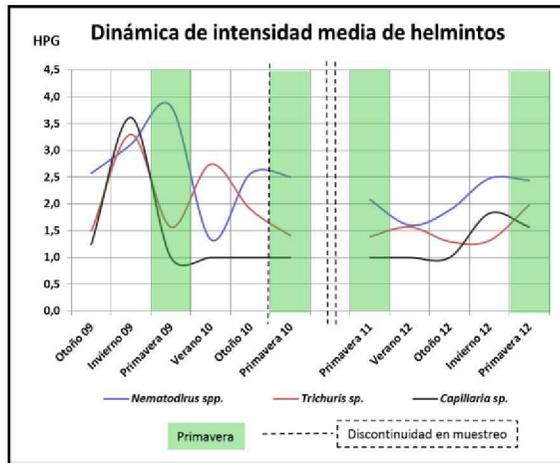


Figura 12.- Dinámicas estacionales de la intensidad media (HPG) de las especies de helmintos que parasitan a guanacos de La Payunia.

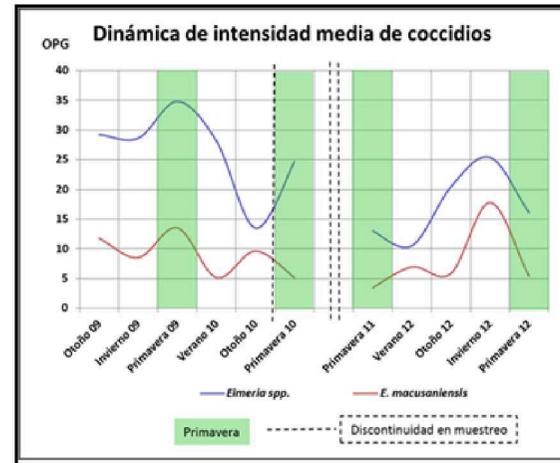


Figura 13.- Dinámicas estacionales de la intensidad media (OPG) de Eimeria spp. y E. macusaniensis en guanacos de La Payunia.

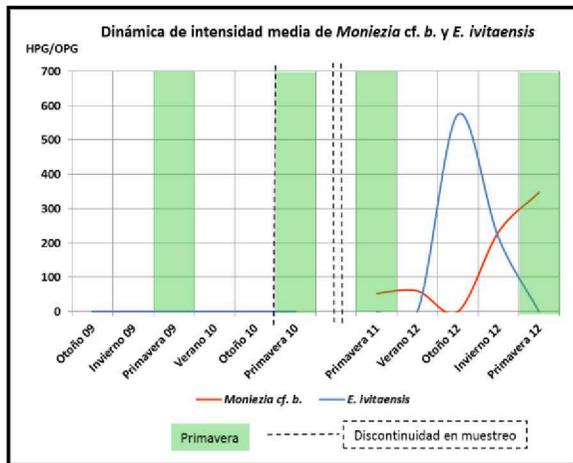


Figura 14.- Dinámicas estacionales de intensidad media de Moniezia cf. benedeni y de E. ivitaensis en guanacos de La Payunia.

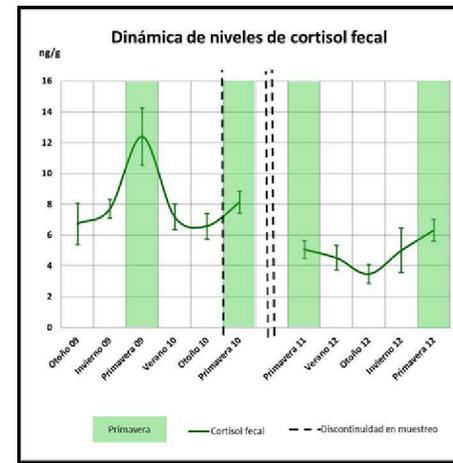


Figura 15.- Dinámica estacional de niveles promedio de MCF (ng/g), límites inferior y superior de intervalos de confianza de 95%.

Tabla 8.- Modelo lineal generalizado que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de *Trichuris* sp. por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).

Término	Estimador	ES	p valor
Modelo Determinantes HPG <i>Trichuris</i> sp.			
Trichuris ~ estación * edad			
Intercepto	-0,680	0,323	0,0351
Estación (otoño) ^a	-0,493	0,461	0,285
Estación (invierno) ^a	-0,365	0,405	0,367
Estación (primavera) ^a	-0,826	0,386	0,032
Edad (chulengo) ^b	-1,517	1,324	0,252
Edad (juvenil) ^b	-18,623	4713,309	0,997
Edad (añal) ^b	-1,400	1,354	0,301
Estación (otoño) X edad (chulengo) ^c	-16,613	2721,230	0,995
Estación (invierno) X edad (chulengo) ^c	-16,740	1965,586	0,993
Estación (primavera) X edad (chulengo) ^c	3,296	1,487	0,027
Estación (otoño) X edad (juvenil) ^c	0,493	7199,698	0,999
Estación (invierno) X edad (juvenil) ^c	18,569	4713,309	0,997
Estación (primavera) X edad (juvenil) ^c	19,367	4713,309	0,997
Estación (otoño) X edad (añal) ^c	1,725	1,763	0,328
Estación (invierno) X edad (añal) ^c	-16,858	6665,625	0,998
Estación (primavera) X edad (añal) ^c	1,424	1,531	0,352

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

^c Contrastes Simples - interacción de referencia: estación verano X edad adulto.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Factores determinantes de abundancia de *Capillaria* sp.

La abundancia de *Capillaria* sp. fue únicamente afectada por la estación, siendo significativamente mayor en invierno que en verano (coef.=2,284±1,0; p=0,022) (Tabla 9).

No hubieron asociaciones entre la abundancia de *Capillaria* sp. con el sexo, categoría de edad, condición corporal; como tampoco se encontraron asociaciones con el tipo y tamaño de grupo social del guanaco.

Tabla 9.- Modelo lineal generalizado mixto que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de *Capillaria* sp. por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).

Término	Estimador	ES	p valor
Modelo Determinantes HPG <i>Capillaria</i> sp.			
Capillaria ~ estación intercepto al azar: campaña de muestreo			
Intercepto	-3,751	0,877	<0,001
Estación (otoño) ^a	1,128	1,073	0,293
Estación (invierno) ^a	2,284	1,000	0,022
Estación (primavera) ^a	0,499	0,975	0,609

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Factores determinantes de abundancia de huevos compatibles con *Strongyloides* sp.

Los factores determinantes de abundancia de huevos compatibles con *Strongyloides* sp. no se analizaron estadísticamente debido a la escasa presencia entre individuos (N=4) del muestreo total, en la primavera de 2012, con intensidades de 1; 2; 13 y 148 huevos por gramo de materia fecal.

Factores determinantes de abundancia de *Moniezia* cf. *benedeni*

Los conteos de *Moniezia* sp. estuvieron influenciados por varios factores determinantes.

A nivel estacional, en primavera se encontraron abundancias significativamente menores que en verano (coef.=-0,617±0,059; p<0,001). En invierno los animales tuvieron niveles de abundancia significativamente mayores que en verano (coef.=0,914±0,069; p<0,001) (Tabla 10).

A su vez, en el segundo período de muestreo (2011-2012) hubieron mayores abundancias de *Moniezia* cf. *benedeni* que en el primero (2009-2010) (coef.=1,45±0,078; p<0,001).

El sector de muestreo tuvo un impacto significativo en los conteos; en el sector NO de la Reserva hubieron mayores abundancias que en el NE (coef.=-0,146±0,0471; p<0,001).

La categoría etaria del hospedador influyó también en la abundancia, ya que individuos juveniles tuvieron mayores conteos de *Moniezia cf. benedeni* que individuos adultos (coef.=2,45±0,0532; p<0,001).

Además, *Moniezia cf. benedeni* fue la única especie parasitaria en la que hubo asociación, negativa, entre abundancia y tamaño de grupo de los guanacos (coef.= -0,32±0,0184; p<0,001).

No se encontraron asociaciones entre la abundancia de *Moniezia cf. benedeni* con el sexo, condición corporal, ni tipo de grupo social del animal.

Tabla 10.- Modelo lineal generalizado que muestra los factores asociados con los conteos de huevos de *Moniezia cf. benedeni* por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).

Término	Estimador	ES	p valor
Modelo Determinantes HPG <i>Moniezia cf. benedeni</i>			
Moniezia ~ edad + estación + período + sector + tamaño de grupo			
Intercepto	-0,817	0,016	<0,001
Edad (chulengo) ^b	-35,7	3,87E ⁺⁰⁶	0,99999
Edad (juvenil) ^b	2,45	0,0532	<0,001
Edad (añal) ^b	-34,5	4,39E ⁺⁰⁶	0,99999
Estación (otoño) ^a	-34,9	2,90E ⁺⁰⁶	0,99999
Estación (invierno) ^a	0,914	0,069	<0,001
Estación (primavera) ^a	-0,617	0,059	<0,001
Período (2) ^c	1,45	0,078	<0,001
Sector (NE) ^d	-0,146	0,0471	<0,001
Tamaño de grupo	-0,32	0,0184	<0,001

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

^c Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^d Contrastes Simples - sector de referencia: NO.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Las tablas 11 y 12 muestran los valores de intensidad media estacional (media geométrica) para cada especie de parásito con un intervalo de confianza de 95%.

Tabla 11.- Intensidad media (media geométrica) estacional de helmintos de guanacos de La Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).

	Estación	N	Nematodirus spp.	LS	LI	Trichuris sp.	LS	LI	Capillaria sp.	LS	LI	Strongyloides sp.	LS	LI	Moniezia cf. b.	LS	LI
Primer período de muestreo	Otoño 2009	30	2,57	3,92	1,60	1,49	1,90	1,14	1,24	1,56	0,97	---	---	---	---	---	---
	Invierno 2009	67	3,12	4,10	2,32	3,30	3,78	2,86	3,61	4,39	2,95	---	---	---	---	---	---
	Primavera 2009	35	3,83	5,86	2,40	1,57	1,93	1,26	1,00	1,08	0,92	---	---	---	---	---	---
	Verano 2010	49	1,34	1,61	1,10	2,74	3,41	2,17	1,00	1,06	0,94	---	---	---	---	---	---
	Otoño 2010	37	2,57	3,34	1,93	1,90	2,36	1,51	1,00	1,11	0,90	---	---	---	---	---	---
	Primavera 2010	113	2,50	3,03	2,05	1,41	1,55	1,27	1,00	1,05	0,95	---	---	---	---	---	---
Segundo período de muestreo	Primavera 2011	101	2,08	2,49	1,72	1,39	1,53	1,25	1,00	1,05	0,95	---	---	---	52,83	58,99	47,31
	Verano 2012	55	1,60	1,95	1,29	1,57	1,79	1,37	1,00	1,07	0,93	---	---	---	60,25	80,92	44,80
	Otoño 2012	51	1,88	2,24	1,57	1,30	1,46	1,14	1,00	1,05	0,95	---	---	---	---	---	---
	Invierno 2012	107	2,48	3,01	2,02	1,32	1,48	1,16	1,83	1,98	1,68	---	---	---	231,39	275,46	194,34
	Primavera 2012	111	2,44	2,97	1,99	1,98	2,28	1,71	1,57	1,68	1,46	9,58	10,72	8,54	347,14	402,32	299,51
Intensidad Media general		756	1,75	--	--	0,31	--	--	0,15	--	--	0,22	--	--	2,85	--	--

LS: Límite superior; LI: Límite inferior.

Tabla 12.- Intensidad media (media geométrica) estacional de coccidios de guanacos de La Payunia, intervalos de confianza de 95% (N=756).

	Estación	n	Eimeria spp.	LS	LI	E. macusaniensis	LS	LI	E. ivitaensis	LS	LI
Primer período de muestreo	Otoño 2009	30	29,23	57,76	14,55	11,75	18,31	7,42	---	---	---
	Invierno 2009	67	28,62	49,56	16,35	8,51	12,03	5,94	---	---	---
	Primavera 2009	35	34,79	81,91	14,45	13,54	23,80	7,53	---	---	---
	Verano 2010	49	28,17	51,57	15,18	5,17	7,28	3,60	---	---	---
	Otoño 2010	37	13,49	25,54	6,91	9,62	14,19	6,43	---	---	---
	Primavera 2010	113	24,69	35,57	17,04	5,16	6,57	4,01	---	---	---
Segundo período de muestreo	Primavera 2011	101	13,01	18,57	9,03	3,47	4,06	2,95	---	---	---
	Verano 2012	55	10,50	16,59	6,52	6,97	9,83	4,86	---	---	---
	Otoño 2012	51	20,44	35,33	11,65	5,87	7,72	4,40	574,00	723,88	455,11
	Invierno 2012	107	25,39	38,94	16,43	17,79	25,52	12,31	215,83	249,23	186,89
	Primavera 2012	111	16,11	23,34	11,02	5,43	6,99	4,17	---	---	---
Intensidad Media General		756	98,47	--	--	11,36	--	--	1,72	--	--

LS: Límite superior; LI: Límite inferior.

Factores determinantes de abundancia de Eimeria spp.

En el primer período de muestreo se encontraron mayores abundancias de Eimeria spp. que en el segundo período de muestreo (coef. $=-1,071\pm 0,382$; $p=0,005$), (Tabla 13).

La estación sólo tuvo importancia como determinante de abundancia en los machos, ya que durante invierno (coef. $=3,116\pm 1,252$; $p=0,013$), y durante primavera (coef. $=2,733\pm 1,082$; $p=0,012$), tuvieron mayores conteos que en verano.

Las abundancias de Eimeria spp. fueron afectadas por el sexo del hospedador; guanacos machos tuvieron menor abundancia que hembras (coef. $=-3,528\pm 0,919$; $p<0,001$).

La edad de los individuos también tuvo un rol importante en la abundancia de Eimeria spp., ya que los chulengos tuvieron menor abundancia que los adultos (coef. $=-5,709\pm 1,677$; $p<0,001$). Esta tendencia se encontró también en la abundancia parasitaria de añales, pero no fue significativa (coef. $=-1,454\pm 0,760$; $p=0,056$).

La condición corporal del guanaco, el tipo de grupo social y el tamaño del mismo no estuvieron asociados con los conteos de ooquistes de este protozoo.

Condiciones meteorológicas y abundancia de Eimeria spp.

Entre todas las especies parásitas en estudio, Eimeria spp. fue el único grupo que manifestó una influencia de las variables meteorológicas en los conteos de OPG en materia fecal de la población de guanacos de La Payunia.

Entre las variables significativas, la temperatura mínima absoluta de la estación de muestreo (coef. $=0,146\pm 0,036$; $p<0,0001$), la máxima temperatura absoluta de la estación previa al muestreo (coef. $=0,146\pm 0,036$; $p<0,0001$), y la humedad relativa promedio de la estación previa al muestreo (coef. $=0,086\pm 0,024$; $p<0,0001$) mostraron una asociación positiva con conteos de OPG de Eimeria spp. (Tabla 14).

Tabla 13.- Modelo lineal generalizado mixto que muestra los factores asociados con los conteos de ooquistes de *Eimeria* spp. por gramo (OPG) de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).

Término	Estimador	ES	p valor
Modelo Determinantes OPG <i>Eimeria</i> spp.			
Eimeria ~ sexo*estación + edad + período intercepto al azar: campaña de muestreo			
Intercepto	6,644	0,834	<0,001
Sexo (macho) ^b	-3,528	0,919	<0,001
Estación (otoño) ^a	-1,036	1,032	0,315
Estación (invierno) ^a	0,932	0,881	0,290
Estación (primavera) ^a	-0,986	0,831	0,235
Edad (chulengo) ^c	-5,709	1,677	<0,001
Edad (juvenil) ^c	1,261	0,779	0,105
Edad (añal) ^c	-1,454	0,760	0,056
Período (2) ^d	-1,071	0,382	0,005
Sexo (macho) X Estación (otoño) ^e	1,645	1,346	0,222
Sexo (macho) X Estación (invierno) ^e	3,116	1,252	0,013
Sexo (macho) X Estación (primavera) ^e	2,733	1,082	0,012

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - sexo de referencia: hembra.

^c Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

^d Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^e Contrastes Simples - interacción de referencia: sexo hembra X estación verano.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Por el contrario, la temperatura máxima absoluta de la estación de muestreo (coef. $=-0,019\pm 0,009$; $p=0,027$), la temperatura promedio de la estación de muestreo (coef. $=-0,065\pm 0,027$; $p=0,018$) así como la temperatura mínima (coef. $=-0,189\pm 0,049$; $p<0,0001$) y las precipitaciones acumuladas de la estación previa al muestreo (coef. $=-0,003\pm 0,001$; $p=0,005$) tuvieron una asociación negativa con las abundancias de *Eimeria* spp.

Tabla 14.- Modelo lineal generalizado que describe la relación entre variables climáticas con abundancia de *Eimeria* spp. (OPG) (N=756).

Modelo Condiciones meteorológicas determinantes de <i>Eimeria</i> spp.			
$Eimeria \sim T_{\min_{estación0}} + T_{\max_{estación0}} + T_{media_{estación0}} + hum_{estacion-1} + T_{\min_{estacion-1}} + T_{\max_{estacion-1}} + precip_{estacion-1}$			
Término	Estimador	ES	p valor
Intercepto	-1,890	1,373	0,169
Temp. mín. _{estación 0}	0,146	0,036	<0,0001
Temp. máx. _{estación 0}	-0,019	0,009	0,027
Temp. media _{estación 0}	-0,065	0,027	0,018
Humedad _{estacion-1}	0,091	0,021	<0,0001
Temp. mín. _{estacion-1}	-0,189	0,049	<0,0001
Temp. máx. _{estacion-1}	0,086	0,024	<0,0001
Precip. acumulada _{estacion-1}	-0,003	0,001	0,005

Temp. mín._{estación 0}: Temperatura mínima absoluta (°C) de estación actual.

Temp. máx._{estación 0}: Temperatura máxima absoluta (°C) de estación actual.

Temp. media_{estación 0}: Temperatura media promedio (°C) de estación actual.

Humedad_{estacion-1}: Humedad relativa promedio (%) de estación previa.

Temp. mín._{estacion-1}: Temperatura mínima absoluta (°C) de estación previa.

Temp. máx._{estacion-1}: Temperatura máxima absoluta (°C) de estación previa.

Precip. acumulada_{estacion-1}: Precipitaciones acumuladas (mm) de estación previa.

Factores determinantes de abundancia de *Eimeria macusaniensis*

Al analizar los conteos de *E. macusaniensis*, se evidenció que las abundancias eran significativamente mayores en el invierno que en verano (coef.=1,641±0,456; p<0,001) (Tabla 15).

La edad también fue importante para las abundancias de este protozooario, ya que los chulengos tuvieron mayor cantidad de OPG que los adultos (coef.=1,435±0,493; p<0,001).

Por otro lado, no se encontraron asociaciones entre la abundancia de *Eimeria macusaniensis* con el sexo, y la condición corporal del animal. Tampoco hubieron asociaciones significativas con el tipo de grupo social del individuo ni con el tamaño del grupo.

Tabla 15.- Modelo lineal generalizado que muestra los factores asociados con los conteos de ooquistes de *Eimeria macusaniensis* por gramo de materia fecal de guanacos silvestres de La Payunia (N=756).

Término	Estimador	ES	p valor
Modelo Determinantes OPG <i>E. macusaniensis</i>			
E. macusaniensis ~ estación+ edad			
Intercepto	1,441	0,372	<0,001
Estación (otoño) ^a	-0,226	0,513	0,659
Estación (invierno) ^a	1,641	0,456	<0,001
Estación (primavera) ^a	0,125	0,420	0,767
Edad (chulengo) ^b	1,435	0,493	<0,001
Edad (juvenil) ^b	0,749	0,590	0,204
Edad (añal) ^b	0,201	0,596	0,736

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Factores determinantes de abundancia de *Eimeria ivitaensis*

Al igual que los huevos compatibles con *Strongyloides* sp., *E. ivitaensis* manifestó una presencia muy escasa entre individuos (N=3) del muestreo total, y sólo fue durante otoño e invierno de 2012, con intensidades individuales de 574 OPG (otoño), y 71 y 652 OPG (invierno). Debido a esta escasez de observaciones no se analizaron sus factores

determinantes de abundancia. Las dinámicas de intensidad media de esta especie se grafican en la figura 14.

Interacciones entre especies parásitas de guanacos como determinantes de abundancia parasitaria

Interacciones parasitarias en muestras de campo

Los conteos de ooquistes de *E. macusaniensis* (como variable respuesta) estuvieron asociados positivamente con los OPG de *Eimeria* spp. (coef.=0,0012±0,0004; p=0,0015), y tuvieron una tendencia de asociación con los de *Nematodirus* spp. (coef.=0,113±0,062; p=0,071).

En la Tabla 16 se encuentra un resumen de los resultados de las asociaciones interespecíficas observadas entre parásitos gastrointestinales de guanacos silvestres.

Para los conteos de *Eimeria* spp. (como variable respuesta) se encontró una asociación positiva con conteos de huevos de *Nematodirus* spp. (coef.=0,118±0,046; p=0,011), pero no con *E. macusaniensis* (coef.=0,0081±0,00048; p=0,080).

Tomando las abundancias de *Nematodirus* spp. como variable respuesta sólo hubo una tendencia de asociación positiva no significativa con los conteos de OPG de *Eimeria* spp. (coef.=0,00024±0,00012; p=0,055).

Tabla 16.- Resumen de asociaciones observadas entre parásitos gastrointestinales de guanacos silvestres.

Variables Independientes:		E. macusaniensis	Eimeria spp.	Nematodirus spp.
Variables Respuesta:				
E. macusaniensis	campo		+	NS
	rectal		NS	NS
Eimeria spp.	campo	NS		+
	rectal	+		+
Nematodirus spp.	campo	NS	NS	
	rectal	NS	+	

campo : muestras de campo

rectal : muestras rectales

+: asociación

NS: No significativa

Interacciones parasitarias en muestras rectales

Los conteos de ooquistes de *E. macusaniensis* no estuvieron asociados con los conteos de otros tipos de parásitos investigados, con excepción de una asociación con la abundancia de *Nematodirus* spp. en los adultos (coef.=0,481±0,223; p=0,031). Además, en este análisis el año tuvo un marcado efecto en la abundancia de *E. macusaniensis*, siendo las muestras de 2010 de abundancias significativamente mayores que las de 2009 (coef.= 4,492±0,73; p<0,001) (Tabla 17).

Los conteos de *Eimeria* spp. estuvieron asociados positivamente con la abundancia de *E. macusaniensis* (coef.=0,031±0,01; p=0,002) y de *Nematodirus* spp. (coef.= 0,18±0,066; p=0,007) (Tabla 16 y 17). En ambos modelos de interacción, *Eimeria* spp. tuvo la mayor abundancia en el año 2010, y la categoría etaria juvenil tuvo abundancias significativamente mayores que la categoría adulto (coef.=1,189±0,596; p=0,046 y coef.=1,716±0,736;p=0,02, respectivamente). Por otro lado, los conteos de *Eimeria* spp. en el modelo de asociaciones interespecíficas con *E. macusaniensis*, estuvieron asociados con el sexo, siendo la abundancia de los machos significativamente menor que la de las hembras (coef.=−1,594±0,696; p=0,022) (Tabla 16 y 17).

Las interacciones interespecíficas de los conteos de huevos de *Nematodirus* spp. con *Eimeria* spp. fueron similares a las encontradas en la relación inversa. Conteos de HPG de *Nematodirus* spp. estuvieron asociados positivamente con los conteos de especies de *Eimeria* spp. (coef.=0,0003±0,0001; p=0,037). El año 2010 fue el de mayores abundancias; pero en este caso las abundancias de HPG de los juveniles fue menor que la de adultos (coef.=−0,829±0,366; p=0,023) (Tabla 16 y 17).

Tabla 17.- Modelos Lineales Generalizados mostrando los factores asociados con conteos de OPG de *Eimeria macusaniensis* y *Eimeria* spp., y conteos de HPG de *Nematodirus* spp. de muestras rectales de guanacos silvestres esquilados (N=74).

Modelo Asociaciones interespecíficas de abundancia de <i>E. macusaniensis</i> Variables independiente= <i>Nematodirus</i> spp. + año + <i>Nematodirus</i> spp. X edad			
Término	Coefficientes	ES	p valor
Intercepto	-1,418	0,762	0,063
<i>Nematodirus</i> spp.	-0,366	0,214	0,088
Año ₍₂₀₁₀₎ ^a	4,492	0,73	<0,001
Edad _(adulto) ^d	-1,103	0,77	0,152
<i>Nematodirus</i> × edad _(adulto) ^d	0,481	0,223	0,031
Modelo Asociaciones interespecíficas de abundancia de <i>Eimeria</i> spp. Variables independientes= <i>Nematodirus</i> spp. + año + edad			
Término	Coefficientes	ES	p valor
Intercepto	-2,986	1,567	0,057
<i>Nematodirus</i> spp.	0,18	0,066	0,007
Año ₍₂₀₁₀₎ ^a	6,564	1,017	<0,001
Edad _(juvenil) ^b	1,716	0,736	0,02
Modelo Asociaciones interespecíficas de abundancia de <i>Eimeria</i> spp. Variables independientes= <i>E. macusaniensis</i> + año + edad + sexo			
Término	Coefficientes	ES	p valor
Intercepto	-3,172	1,621	0,05
<i>E. macusaniensis</i>	0,031	0,01	0,002
Año ₍₂₀₁₀₎ ^a	7,321	1,075	<0,001
Edad _(juvenil) ^b	1,189	0,596	0,046
Sexo _(macho) ^c	-1,594	0,696	0,022
Modelo Asociaciones interespecíficas de abundancia de <i>Nematodirus</i> spp. Variables independientes= <i>Eimeria</i> spp. + año + edad			
Término	Coefficientes	ES	p valor
Intercepto	-0,398	0,641	0,534
<i>Eimeria</i> spp.	0,0003	0,0001	0,037
Año ₍₂₀₁₀₎ ^a	0,722	0,331	0,029
Edad _(juvenil) ^b	-0,829	0,366	0,023

^a Contrastes Simples – año de referencia: 2009.

^b Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

^c Contrastes Simples - sexo de referencia: hembra.

^d Contrastes Simples - edad de referencia: juvenil.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

Análisis de asociaciones entre niveles de MCF y abundancias parasitarias

No se encontraron asociaciones entre los niveles de MCF con la abundancia parasitaria de ninguna de las especies presentes: *Nematodirus* spp. (coef.= $-0,02 \pm 0,025$; $p= 0,201$); *Trichuris* sp. (coef.= $-0,01 \pm 0,04$; $p= 0,63$); *Capillaria* sp. (coef.= $0,003 \pm 0,025$; $p= 0,83$); *Moniezia* cf. *benedeni* (coef.= $0,001 \pm 0,0015$; $p= 0,56$); *Eimeria* spp. (coef.= $-0,0001 \pm 0,001$; $p= 0,12$); *E. macusaniensis* (coef.= $-0,0003 \pm 0,0004$; $p= 0,18$); y *E. ivitaensis* (coef.= $-0,0004 \pm 0,0014$; $p= 0,45$) (Tablas 18, 19, 20, y 21).

Tabla 18.- Modelo lineal mixto que describe la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período y abundancia (HPG) de *Nematodirus* spp. (N= 711).

Término	Coefficiente	LI ^d	LS ^d	p
Modelo niveles de cortisol y HPG de <i>Nematodirus</i> spp.				
log(cortisol)~ <i>Nematodirus</i> * estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,33	2,03	2,63	<0,01
<i>Nematodirus</i> spp.	-0,02	-0,04	0,01	0,201
Estación (invierno) ^a	0,17	-0,07	0,44	0,17
Estación (primavera) ^a	0,31	0,09	0,56	0,01
Estación (verano) ^a	0,10	-0,19	0,41	0,49
Periodo (2) ^b	-0,56	-0,74	-0,39	<0,01
<i>Nematodirus</i> spp. x Estación (invierno) ^c	0,02	-0,01	0,05	0,16
<i>Nematodirus</i> spp. x Estación (primavera) ^c	0,03	-0,001	0,061	0,05
<i>Nematodirus</i> spp. x Estación (verano) ^c	0,09	-0,02	0,21	0,14

^a Contrastes Simples - estación de referencia: otoño.

^b Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^c Contrastes Simples - interacción de referencia: *Nematodirus* spp. X estación otoño.

^d Límites inferior y superior de intervalo de confianza de 95%.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

p-valores obtenidos por Markov chain Monte Carlo samples (función pvals.fnc de R).

Tabla 19.- Modelos lineales mixtos que describen la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período y abundancia (OPG) de *Eimeria* spp. y *E. macusaniensis* (N= 711).

Término	Coefficiente	LI^c	LS^c	p valor
Modelo niveles de cortisol y OPG de Eimeria spp.				
log(cortisol) ~ <i>Eimeria</i> + estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,47	2,2011	2,80	<0,01
<i>Eimeria</i> spp.	-0,0001	-0,002	0,00001	0,12
Estación (otoño) ^a	-0,16	-0,45	0,14	0,27
Estación (invierno) ^a	0,05	-0,20	0,36	0,68
Estación (primavera) ^a	0,20	-0,08	0,45	0,201
Período (2) ^b	-0,56	-0,72	-0,39	<0,01
Modelo niveles de cortisol y OPG de Eimeria macusaniensis.				
log(cortisol) ~ <i>E. macusaniensis</i> + estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,46	2,2011	2,80	<0,01
<i>E. macusaniensis</i>	-0,0003	-0,0007	0,0001	0,18
Estación (otoño) ^a	-0,15	-0,46	0,14	0,28
Estación (invierno) ^a	0,05	-0,22	0,33	0,68
Estación (primavera) ^a	0,20	-0,05	0,48	0,10
Período (2) ^b	-0,55	-0,73	-0,39	<0,01

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^c Límites inferior y superior de intervalo de confianza de 95%.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

p-valores obtenidos por Markov chain Monte Carlo samples (función pvals.fnc de R).

Tabla 20.- Modelos lineales mixtos que describen la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período, edad y abundancia (HPG) de *Trichuris* sp. y *Capillaria* sp. (N= 711).

Término	Coefficiente	LI^d	LS^d	pvalor
Modelo niveles de cortisol y HPG de Trichuris sp.				
log(cortisol) ~ edad + <i>Trichuris</i> + estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,49	2,16	2,82	<0,01
Edad (chulengo) ^c	0,13	-0,01	0,26	0,07
Edad (juvenil) ^c	0,01	-0,15	0,18	0,88
Edad (añal) ^c	-0,02	-0,20	0,15	0,78
<i>Trichuris</i> sp.	-0,01	-0,05	0,03	0,63
Estación (otoño) ^a	-0,16	-0,45	0,12	0,22
Estación (invierno) ^a	0,03	-0,23	0,30	0,83
Estación (primavera) ^a	0,21	-0,05	0,46	0,08
Período (2) ^b	-0,58	-0,75	-0,42	<0,01
Modelo niveles de cortisol y HPG de Capillaria sp.				
log(cortisol) ~ edad + <i>Capillaria</i> + estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,48	2,15	2,81	<0,01
Edad (chulengo) ^c	0,13	-0,01	0,27	0,07
Edad (juvenil) ^c	0,01	-0,15	0,18	0,89
Edad (añal) ^c	-0,02	-0,19	0,15	0,80
<i>Capillaria</i> sp.	0,003	-0,02	0,03	0,83
Estación (otoño) ^a	-0,16	-0,43	0,13	0,22
Estación (invierno) ^a	0,03	-0,23	0,30	0,83
Estación (primavera) ^a	0,21	-0,04	0,45	0,07
Período (2) ^b	-0,57	-0,74	-0,41	<0,01

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^c Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

^d Límites inferior y superior de intervalo de confianza de 95%.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

p-valores obtenidos por Markov chain Monte Carlo samples (función pvals.fnc de R).

Tabla 21.- Modelos lineales mixtos que describen la relación entre niveles de metabolitos de cortisol fecal, estación, período, edad y abundancia (OPG/HPG) de *Moniezia cf. benedeni* y *Eimeria ivitaensis* (N= 711).

Término	Coefficiente	LI^d	LS^d	p valor
Modelo niveles de cortisol y HPG de <i>Moniezia cf. benedeni</i>				
log(cortisol) ~ edad + <i>Moniezia</i> + estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,49	2,16	2,81	<0,01
Edad (chulengo)	0,13	-0,01	0,27	0,07
Edad (juvenil)	0,00	-0,17	0,17	0,98
Edad (añal)	-0,02	-0,20	0,14	0,80
<i>Moniezia cf. benedeni</i>	0,001	-0,001	0,002	0,56
Estación (otoño) ^a	-0,16	-0,45	0,12	0,22
Estación (invierno) ^a	0,03	-0,23	0,29	0,81
Estación (primavera) ^a	0,21	-0,04	0,46	0,07
Período (2) ^b	-0,58	-0,74	-0,42	<0,01
Modelo niveles de cortisol y OPG de <i>E. ivitaensis</i>				
log(cortisol) ~ edad + <i>E. ivitaensis</i> + estación + período intercepto al azar: campaña de muestreo				
Intercepto	2,48	2,17	2,82	<0,01
Edad (chulengo)	0,13	-0,01	0,27	0,07
Edad (juvenil)	0,01	-0,16	0,17	0,90
Edad (añal)	-0,02	-0,20	0,14	0,79
<i>Eimeria ivitaensis</i>	-0,0004	-0,002	0,0007	0,45
Estación (otoño) ^a	-0,16	-0,45	0,12	0,22
Estación (invierno) ^a	0,03	-0,24	0,30	0,81
Estación (primavera) ^a	0,21	-0,05	0,45	0,07
Período (2) ^b	-0,57	-0,74	-0,41	<0,01

^a Contrastes Simples - estación de referencia: verano.

^b Contrastes Simples - período de referencia: 1.

^c Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

^d Límites inferior y superior de intervalo de confianza de 95%.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

p-valores obtenidos por Markov chain Monte Carlo samples (función pvals.fnc de R).

Análisis de asociaciones entre niveles séricos de Anticuerpos Naturales, abundancias parasitarias y MCF

El análisis de asociaciones entre niveles circulantes de AN con las abundancias parasitarias de las distintas especies presentes en la población de guanacos de La Payunia no arrojó tendencias ni correlaciones significativas (Tabla 22).

Tampoco se encontraron asociaciones entre los niveles de AN y los niveles de MCF ($p=0,349$).

Tabla 22.- Modelos lineales que describen la relación entre niveles séricos de Anticuerpos Naturales, con sexo, edad y abundancia parasitaria (OPG/HPG) de todas las especies encontradas (N= 54).

Modelo Relación Anticuerpos naturales y abundancias parasitarias			
AN ~ sexo + edad + Nematodirus + Eimeria + Trichuris + Capillaria + E.macusaniensis + condición corporal + MCF			
Término	Estimador	ES	p valor
Intercepto	1,078	0,967	0,274
Sexo (macho) ^a	-0,382	0,485	0,438
Edad (juvenil) ^b	-0,629	0,476	0,197
Edad (añal) ^b	-0,436	0,547	0,432
Nematodirus spp.	-0,022	0,046	0,635
Eimeria spp.	0,0001	0,0003	0,623
Trichuris sp.	-0,231	0,583	0,694
Capillaria sp.	-0,170	0,861	0,845
E. macusaniensis	0,001	0,007	0,922
Condición corporal	0,405	0,351	0,259
MCF	0,402	0,385	0,349

^a Contrastes Simples - sexo de referencia: hembra.

^b Contrastes Simples - edad de referencia: adulto.

Indica diferencia significativa con el nivel de referencia.

DISCUSIÓN

La población de guanacos silvestres de La Payunia alberga una comunidad de parásitos gastrointestinales de al menos 11 especies: *Nematodirus* spp., *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Strongyloides* sp., *Moniezia* cf. *benedeni*, *Eimeria* *lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis*, y *E. ivitaensis*. Karesh y col. (1998) reportaron la presencia de 5 especies de parásitos gastrointestinales en guanacos de la Patagonia argentina (Chubut) pertenecientes a los géneros *Strongyloides*, *Nematodirus*, *Marshallagia*, *Trichostrongylus* y *Trichuris*. Beldomenico y col. (2003) pocos años después encontraron la presencia de *Nematodirus* sp., *Marshallagia* sp., *Trichuris* sp., y *Eimeria* spp. en materia fecal, e individuos adultos de *Trichuris* sp., y *Moniezia* expansa en los tractos gastrointestinales de animales muertos. Castillo y col. (2008) estudiaron las comunidades parasitarias de 9 poblaciones de guanacos silvestres en Perú y evidenciaron la presencia de 8 especies de nematodos: *Graphinema aucheniae*, *Bunostomum* sp., *Ostertagia* sp., *Trichuris* sp., *Cooperia* sp., *Nematodirus* sp., *Mazamastrongylus peruvianus* y *Trichostrongylus* sp. y cuatro especies de *Eimeria*: *E. lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis* y *E. macusaniensis*. A su vez, Correa y col. (2011) encontraron huevos de *Nematodirus* sp., *E. macusaniensis*, y huevos de tipo estrombolado de especie sin reconocer en una población de guanacos del sur de Chile. La comunidad parasitaria de la población de guanacos de La Payunia no mostró una riqueza menor a la de otras poblaciones como se esperaba, considerando la aridez de su entorno (precipitaciones anuales de 180 mm) y las muy bajas temperaturas a las que se enfrentan durante invierno. Los análisis estadísticos en los que se evaluó la influencia de las condiciones meteorológicas ambientales de las estaciones de muestreo y de las estaciones previas al muestreo mostraron una ausencia de relación con la abundancia y prevalencia de las especies de esta comunidad componente (a excepción de *Eimeria* spp.), lo que sugiere que las especies que la componen tienen formas de vida libre lo suficientemente resistentes como para permanecer infectando un porcentaje de la población relativamente estable en el tiempo independientemente de las condiciones climáticas.

En este trabajo, en la Reserva La Payunia la prevalencia encontrada de *Nematodirus* spp. osciló entre 16% y 88% dependiendo de la estación, lo que determina una alta prevalencia comparada con las del resto de los trabajos que la reportan en

guanacos (Navone y Merino, 1989; Karesh y col., 1998; Beldomenico y col., 2003; Castillo y col., 2008; Correa y col., 2011). Castillo y col. (2008), en Perú, encontraron su presencia en sólo dos poblaciones, y con prevalencias inferiores a 7%. En Argentina, Karesh y col. (1998) estudiaron una población de guanacos silvestres de la Reserva Cabo Dos Bahías (Chubut), donde encontraron que el 30% de los animales analizados albergaba huevos de esta especie. En el invierno del año 2000, consecuencia de una sequía de un año de duración, hubo una mortandad masiva en la misma población; Beldomenico y col. (2003) detectaron huevos de *Nematodirus* spp. en muestras de estos animales muertos, con intensidades de 0-300 HPG. A su vez, Navone y Merino (1989) detectaron intensidades que alcanzaron los 170 HPG en una población de Tierra del Fuego, pero no se reportó la proporción de animales afectados. Otro estudio en el que la prevalencia de *Nematodirus* sp. fue elevada es el de Correa y col. (2011), con 46,7% en guanacos de una población en semi-cautiverio en Magallanes, sur de Chile. En Payunia, las intensidades de esta especie llegaron a los 383 HPG, lo que las establece en los mayores niveles reportados. La presencia a lo largo de todo el año en Payunia podría deberse a que las larvas de *Nematodirus* sp. son capaces de sobrevivir durante el invierno encapsuladas dentro de sus huevos (Rose y Jacobs 1990; Stromberg 1997; Manfredi 2006), y por lo tanto, la probabilidad de supervivencia que tienen es mayor que la de otras especies de Trichostrongylidos. En los nematodos del tipo trichostrongylido, que incluyen *Camelostongylus mentulatus*, *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Trichostrongylus*, *Haemonchus* y *Cooperia*, los huevos producidos por las hembras adultas son eliminados del hospedador por medio de las heces. El desarrollo larvario ocurre en la materia fecal, que les provee cierta protección del ambiente. La larva de primer estadio (L1) eclosiona del huevo, se alimenta de bacterias, y sufre dos mudas hasta llegar al tercer estadio (L3), que es el estadio infestante (estadio capaz de invadir al hospedador). Esta larva 3 se mueve fuera de la materia fecal que la rodea hacia las pasturas de donde son ingeridas. La supervivencia de los huevos y larvas en la pastura, que lleva a infectar exitosamente al próximo hospedador, depende de una multitud de factores, siendo la temperatura y humedad los determinantes más críticos de supervivencia (Ballweber, 2009). A diferencia del ciclo de vida típico de los trichostrongylidos, las larvas de *Nematodirus* spp. se desarrollan hasta L3 dentro del huevo, permaneciendo en ese estadio hasta ser estimuladas para eclosionar. El huevo les provee protección contra condiciones ambientales adversas, por lo que los huevos

pueden hibernar y eclosionar en la siguiente primavera. Esta condición que posee la etapa larvaria de *Nematodirus* podría ser la causa de la diferencia en prevalencias superiores a las de otras especies de nematodos, como es el caso de *Strongyloides* sp., que sólo estuvo presente en una estación a lo largo de todo el muestreo, primavera de 2012, y con intensidades muy bajas; similar a lo hallado por Karesh y col. (1998), que sólo encontraron sus huevos en un individuo de un total de 20 analizados.

En los guanacos del sector noroeste de la Reserva La Payunia se encontraron abundancias significativamente mayores de *Nematodirus* spp. y de *Moniezia* cf. *benedeni* que en los del noreste. Estos dos tipos de parásitos no son específicos de CS y se comparten con el ganado doméstico. En este estudio no se pudo determinar si algunos de los huevos de la especie de *Nematodirus* sp. pertenecían a la especie específica de los CS, *N. lamae*; pero sí se pudo confirmar que una gran proporción de estos huevos son compatibles con las especies *N. spathiger* y *N. helvetianus*, que son parásitos habituales de ganado doméstico (Ballweber, 2009). La especie de ganado predominante en el sector NO de la reserva es la bovina. Schroeder y col. (2013) pudieron establecer que en este sector hay un importante ingreso de ganado bovino y equino en la época de otoño-invierno; en el sector NE la mayor densidad de ganado es caprina, y en menor medida bovina. *Moniezia benedeni* es una especie parásita común de los bovinos (Foreyt, 2001), por lo que la presencia de este género en muestras de CS es considerada un reflejo de la interacción con el ganado doméstico (Karesh y col., 1998; Beldomenico y col., 2003).

Trichuris sp. tuvo una prevalencia media general de 15,48%, y las abundancias fueron influenciadas por la estación, siendo menores en primavera que en verano. Karesh y col. (1998) reportaron una prevalencia estival de 25 %, similar a la encontrada en el verano de 2010 en esta tesis, momento en que la prevalencia fue de 20,41%. En cambio, en verano de 2012, esta especie sólo se encontró en 10% de las muestras de La Payunia analizadas. Sin embargo, en este período de muestreo (2011-2012) la prevalencia fue mayor en invierno, como lo reportado por Cafrune y col. (1999). Por otro lado Beldomenico y col. (2003), en invierno, encontraron parásitos adultos en el intestino grueso del 41,6% de los guanacos analizados. Castillo y col. (2008) sólo encontró huevos de esta especie en el 8,3%. Navone y Merino (1989) y Correa y col. (2011) no reportaron su presencia en sendos trabajos.

Capillaria sp. tuvo una prevalencia general de 5,56%, con intensidad media de 0,15 HPG y una intensidad máxima de 42 HPG. Las abundancias de invierno fueron mayores que las de verano.

Moniezia cf. *benedeni* no estuvo presente a lo largo de todo el muestreo, y sus abundancias fueron afectadas por la estación de muestreo. La prevalencia encontrada fue de 1,72%; con una intensidad máxima de 385 HPG. En el estudio que realizaron Beldomenico y col. (2003) se encontraron parásitos adultos en el intestino delgado del 10% de los animales analizados. Un punto a tener en cuenta acerca de la eliminación de huevos por estas especies es la irregularidad en que lo hacen, por lo que en la bibliografía se sugiere que sus conteos no son informativos de la intensidad parasitaria real de esta especie (Fiel, 2011). Es por este motivo que en las muestras de materia fecal correspondientes a los animales en los que se encontraron parásitos adultos de *Moniezia* expansa del estudio de Beldomenico y col. (2003) no se hayan encontrado huevos.

A pesar de que se hayan reportado seis especies de *Eimeria* en CS, sólo cuatro (*E. punoensis*, *E. alpaca*, *E. lamae*, *E. macusaniensis*) son consideradas comunes (Fowler, 1989). Una quinta especie, *E. ivitaensis*, se describió infectando alpacas de Perú (Leguía y Casas, 1998). La sexta especie, *E. peruviana*, ha sido raramente documentada desde su descripción original, en 1934, y no ha sido reportada en ninguna encuesta epidemiológica en CS fuera de la ex Unión Soviética. En las muestras analizadas para esta tesis, las especies *E. lamae*, *E. alpaca*, y *E. punoensis* se analizaron agrupadas como *Eimeria* spp. debido a que su diferenciación a nivel de especie en el momento del diagnóstico demandaba una cantidad de tiempo excesiva e impedía obtener la información de intensidad que brindaba la técnica aplicada. La prevalencia para este grupo de especies de *Eimeria* fue de 53%, superior al 33% de prevalencia encontrada en guanacos de Perú (Castillo y col., 2008). En la población de Cabo Dos Bahías, Karesh y col. (1998) no reportaron la presencia de este género; pero Beldomenico y col. (2003) encontraron en el año 2000 que el 83% de las muestras era positivo a la presencia de estos ooquistes. En la población de Tierra del Fuego que estudiaron Navone y Merino (1989) se encontró su presencia pero no se reportó la prevalencia. Por el contrario, los guanacos en semi-cautiverio de Magallanes no tuvieron este tipo de coccidios (Correa y col., 2011).

Las abundancias de *Eimeria* fueron afectadas por varios factores ambientales e intrínsecos del hospedador. Este grupo de parásitos fue el único que fue afectado por el sexo del hospedador, siendo las abundancias de los machos menores que las de hembras. Se desconoce el mecanismo que estaría operando en esta influencia del sexo en la abundancia de *Eimeria* spp., ya que los antecedentes determinan una relación inversa a que se encontró en este trabajo dado que se ha reportado que los machos muestran típicamente mayor susceptibilidad y una respuesta inmunológica más débil que las hembras (Grossman, 1985; Alexander y Stimson, 1988; Folstad y Karter, 1992).

Leguía (1999) reportó que las coccidiosis causadas por *Eimeria* afectan principalmente a las crías de alpacas, con prevalencias de entre 30 y 100%. Esta relación inversa entre edad e intensidad o prevalencia parasitaria es la más comúnmente encontrada. Sin embargo, las abundancias de *Eimeria* spp. en individuos menores a un año (chulengos) fueron menores que las de guanacos adultos de La Payunia. En cuanto a *E. macusaniensis*, en este trabajo la prevalencia general fue de 30%, y las abundancias fueron afectadas por la estación de muestreo y la edad de los animales, siendo mayores las de chulengos que las de adultos, como se reporta habitualmente. Guerrero y col. (1971) y Jarvinen (1999) reportaron un patrón de distribución similar, en el que la prevalencia y abundancia de juveniles son mayores que las de los adultos.

Por otro lado, las abundancias de *Eimeria* spp. fueron las únicas afectadas por las condiciones climáticas reinantes de la estación de muestreo y de la estación previa al muestreo. Las variables que tienen una asociación positiva con las abundancias de *Eimeria* spp. son la temperatura mínima absoluta de la estación de muestreo, la temperatura máxima absoluta de la estación previa al muestreo, y la humedad relativa promedio de la estación previa al muestreo. Por el contrario, la máxima temperatura absoluta de la estación de muestreo, la temperatura promedio de la estación de muestreo; así como las temperaturas mínima y las precipitaciones acumuladas de la estación previa al muestreo tuvieron una asociación negativa; lo que podría estar indicando la influencia ambiental en la resistencia y viabilidad de los ooquistes eliminados en ambas estaciones.

Entre las interacciones parasitarias investigadas se encontraron mayoritariamente asociaciones positivas/sinérgicas. Este es el caso no sólo para los tipos de parásitos

(coccidios vs. nematodos) sino también para los parásitos estrechamente relacionados (especies de *Eimeria*). La asociación entre *Nematodirus* y las especies de *Eimeria* combinadas fue siempre positiva y evidente tanto en muestras rectales como de campo. Encontrar asociaciones positivas entre coccidios fue lo opuesto a lo que se esperaba, considerando que la competencia entre especies estrechamente emparentadas y la respuesta inmune cruzada podría haber llevado a interacciones antagónicas.

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

Los helmintos tienen el potencial de alterar las dinámicas de microparásitos coinfectantes, tanto limitando el acceso a los recursos como afectando el sistema inmune (Graham, 2008). Esto puede resultar en interacciones negativas en el primer caso, o sinérgicas en el segundo. La inhibición mutua entre citoquinas es un mecanismo bien documentado por el que los microparásitos y helmintos pueden interactuar

sinérgicamente. Los protozoos estimulan una respuesta de linfocitos T helper tipo 1 y de linfocitos T helper tipo 17, mientras que los helmintos inducen respuestas de linfocitos T helper tipo 2, y las citoquinas que son parte de una respuesta regulan el descenso de aquellas que intervienen en otro tipo de respuesta (Diaz y col., 2007). Estos trade-offs inmunológicos tienen el potencial de facilitar interacciones sinérgicas, como se ha documentado con algunos sistemas hospedador-parásito (Jolles y col., 2008; Pathak y col., 2012). Consistente con esto, se encontraron asociaciones positivas significativas entre coccidios y nematodos en guanacos.

Los estudios experimentales ayudan a revelar los mecanismos y las vías que causan las interacciones parasitarias interespecíficas subyacentes, pero como los sistemas naturales son extremadamente complejos, con cada hospedador que alberga a una rica comunidad de especies de parásitos interactuantes y atravesando historias de vida variables, la red de efectos resultante es principalmente apreciada con estudios observacionales. Datos empíricos experimentales y observacionales, acompañados de estudios teóricos, son necesarios para arrojar luz a nuestro entendimiento de la ocurrencia y consecuencias de interacciones interespecíficas entre parásitos coinfectantes. Estos resultados destacan la necesidad de investigar estas interacciones en detalle en este sistema hospedador-parásito.

Aunque a corto y mediano plazo los factores estresantes provocan un aumento en la inmunidad, está ampliamente aceptado que el estrés crónico resulta en una inmunosupresión a través de mecanismos neuroendócrinos que implican el eje HPA y glucocorticoides, con el fin de redirigir los recursos hacia los procesos fisiológicos que son importantes para superar la situación adversa (Sapolsky y col., 2000). En esta tesis no se encontraron asociaciones entre los niveles de cortisol fecal y las abundancias parasitarias. Esta ausencia de asociación entre niveles de metabolitos fecales y cargas de larvas pulmonares también se encontró en muflón canadiense (*Ovis canadensis canadensis*) (Goldstein y col., 2005), por lo que concluyeron que los niveles de glucocorticoides estuvieran reflejando los patrones estacionales. Los niveles de MCF de guanacos analizados en esta tesis mostraron también un marcado patrón estacional, con niveles significativamente mayores durante primavera, coincidentes con la finalización de la época de menor productividad vegetal, lo que podría apoyar las conclusiones de Goldstein y col. (2005). Sin embargo, en un estudio experimental con carpinchos

(*Hydrochoerus hydrochaeris*) (Eberhardt y col., 2013), los individuos con restricción alimentaria e individuos bajo restricción física tuvieron recuentos de oocistos significativamente mayores que los animales sin estresores. En este mismo trabajo, la intensidad de infección de nematodos gastrointestinales se comportó de manera opuesta. Los animales sin aplicación de estímulos estresores tuvieron cargas parasitarias mucho más altas que los individuos con restricción física, patrón que fue consistente para todas las especies de nematodos. El mismo patrón se mantuvo en los carpinchos bajo estrés nutricional, aunque la diferencia fue sólo significativa para *Trichuris* sp. y *S. chapini*, demostrando que la restricción alimenticia y el estrés físico tienen influencias opuestas sobre los microparásitos y macroparásitos gastrointestinales. Estos antecedentes, y la estacionalidad de los niveles de MCF pueden sugerir que los guanacos muestreados de La Payunia no se enfrentan a estímulos estresantes de duración o intensidad suficiente como para establecer la cronicidad, y afectar las dinámicas parasitarias con impacto a nivel poblacional.

En esta tesis se presentan mediciones de anticuerpos naturales de la población de guanacos silvestres, utilizando una metodología de sencilla aplicación. Los títulos de AN tuvieron una mediana de 1:4, y una máxima de 1:256. No hay antecedentes de la evaluación de niveles de AN en camélidos, a excepción del trabajo de Sehrawat y Sing (2006), pero que sólo reporta la presencia de actividad anti-eritrocitaria de los AN de dromedarios de la India. Recientemente, Racca y col. (2013) evaluaron los niveles de AN de un roedor silvestre (*Hydrochoerus hydrochaeris*), habitante de los Esteros del Iberá (Argentina), y tuvieron una mediana para los niveles de AN de 1:256, y los mayores niveles en 1:16384. Si bien no se pueden realizar comparaciones entre niveles de AN de carpinchos y guanacos, los resultados aquí reportados para *Lama guanicoe*, además de servir como información basal para la especie, sugieren también la existencia de diferencias importantes en las concentraciones de AN entre carpinchos y guanacos, independientemente de la causa subyacente (distancia taxonómica, adaptación a los ambientes que habitan, o diferencias en la riqueza de la comunidad parasitaria que hospedan).

Los niveles de AN no tuvieron asociación con la clase etaria del animal, al igual que lo reportado en carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) por Racca y col. (2013). Por el contrario, Matson y col. (2005) encontraron diferencias significativas en los

niveles de AN de pichones de gallina (*Gallus domesticus*) de 2 semanas y pichones de 11 semanas. Sin embargo, en otro trabajo con *Gallus domesticus*, Seto y Henderson (1968) reportaron que la hemaglutinación en pollos tenía incrementos significativos entre las primeras 3 y 12 semanas de vida, momento en que se alcanzaba una meseta en la respuesta; por lo que Matson y col. (2005) sugieren limitar las comparaciones de niveles de AN a individuos de las mismas categorías etarias en aves, ya que la tasa de incremento de AN circulantes probablemente dependa del período de desarrollo del animal. La etapa de desarrollo en la que se alcanza la meseta en los niveles de AN circulantes en guanacos se desconoce, pero probablemente no se hayan detectado diferencias entre las categorías analizadas en este trabajo por el desbalance en la cantidad de muestras de adultos (n=61), juveniles (n=9) y añales (n=9), o porque las diferencias significativas en los niveles de AN se encuentren en el primer año de vida y la meseta al llegar a la categoría de añal.

La escasez de información del estado inmunitario de los individuos de poblaciones de fauna silvestre argentina impone como una necesidad el desarrollo de estudios similares a este con la misma y otras poblaciones de guanacos, así como con otras especies silvestres para generar el conocimiento básico acerca de los perfiles de los componentes innatos de la inmunidad, integrándolos con la interpretación de otros indicadores del estado inmunológico. También se sugiere realizar las mediciones de AN en futuros trabajos con la evaluación simultánea de la actividad del sistema del complemento. Esto se puede realizar con la misma metodología que se describió para la hemaglutinación por AN, y luego de la incubación, además de medirse los niveles de hemaglutinación, se miden también los niveles de hemólisis en la microplaca (Matson y col., 2005). Es importante tener en cuenta que los componentes del complemento se desnaturalizan a los pocos minutos de la extracción de plasma, independientemente del modo de conservación de la muestra. Es por este motivo que con el plasma obtenido para esta tesis no se pudo evaluar el sistema del complemento.

CONCLUSIONES

Los factores habitualmente considerados como determinantes de abundancia y distribución de endoparásitos en fauna se limitan generalmente a las variaciones estacionales y climáticas, o a variables asociadas a la historia natural o estado fisiológico del hospedador. El conocimiento de las condiciones que afectan las dinámicas de prevalencias y abundancias parasitarias de la fauna autóctona de nuestro país son escasos y se enfocan principalmente a descripciones morfológicas de las especies parásitas, a descripciones de prevalencias de un único momento o estudios de períodos de tiempo muy acotados.

En esta tesis se abordó el estudio de las dinámicas de prevalencia, intensidad y abundancia de la comunidad parasitaria del tracto gastrointestinal de guanacos silvestres de la reserva La Payunia en el período comprendido entre otoño de 2009 y primavera de 2012; analizando los posibles efectos de los distintos años, estaciones, sitios, y condiciones climáticas reinantes en los períodos de muestreo; así como las posibles asociaciones con variables del hospedador como sexo, categoría etaria, condición corporal, niveles de estrés, niveles de anticuerpos naturales, y tipo de grupo social y tamaño grupal entre las variables sociales. También se consideraron como posibles determinantes de la abundancia a las interacciones interespecíficas entre parásitos coinfectantes.

Se pudo determinar que los parásitos gastrointestinales que componen esta comunidad son al menos 11 especies, 4 de ellas son nematodos (*Nematodirus* spp., *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Strongyloides* sp.); 1 especie de cestode (*Moniezia* cf. *benedeni*); y 5 especies de protozoos (*Eimeria lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis*, *E. ivitaensis*). Los protozoos encontrados son específicos de CS, pero la presencia de huevos de *Nematodirus* spp., *Moniezia* cf. *benedeni* y *Strongyloides* sp. en materia fecal indican que los guanacos están siendo infectados por patógenos de ganado doméstico.

Por otro lado, análisis estadísticos permitieron dilucidar asociaciones entre las abundancias parasitarias y un sector geográfico de la reserva determinado, específicamente con *Nematodirus* spp. y *Moniezia* cf. *benedeni* en el NO de La Payunia.

El período y año de muestreo son significativos para las abundancias de *Nematodirus* spp., *Moniezia* cf. *benedeni*, y *Eimeria* spp.; y la estación climática para *Trichuris* sp., *Capillaria* sp., *Moniezia* cf. *benedeni*, *Eimeria* spp. y *E. macusaniensis*. Las condiciones meteorológicas reinantes en la estación de muestreo como en la inmediata anterior influyen en los conteos de ooquistes de *Eimeria* spp. únicamente.

Al considerar las variables intrínsecas del hospedador que afectan las abundancias parasitarias sólo cuentan el sexo y la categoría etaria (para *Nematodirus* spp., *Trichuris* sp., *Moniezia* cf. *benedeni*, *Eimeria* spp., *E. macusaniensis*).

El tipo de grupo social no afecta las abundancias parasitarias, pero sí hay una relación negativa entre el tamaño de grupo y los conteos de huevos de *Moniezia* cf. *benedeni*.

Los niveles de estrés (MCF) y niveles de anticuerpos naturales no están asociados a las cargas parasitarias.

En la comunidad gastrointestinal de guanacos de Payunia existen asociaciones interespecíficas positivas entre los conteos de *Eimeria* spp. y *E. macusaniensis*; entre abundancias de *E. macusaniensis* y *Nematodirus* spp.; y entre conteos de *Eimeria* spp. y *Nematodirus* spp.

Esta tesis pone de manifiesto la importancia de considerar los múltiples factores que influyen en las dinámicas parasitarias en poblaciones silvestres, teniendo en cuenta que interactúan estableciendo una intrincada red de causalidad; y sugiere ampliar los horizontes en los estudios de dinámicas de salud y enfermedad, más allá de las variables tradicionalmente consideradas como determinantes de las prevalencias y abundancias de los patógenos de fauna silvestre.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin el incondicional apoyo de mi amada Romi, quien me apoyó y comprendió en todos los momentos de agotamiento, cansancio e intolerancia.

A Francisquín, Fafa, cuya presencia está enriqueciendo nuestras vidas de una manera inimaginable.

A mi familia: MAMI, y PA, mi Naty, mi Dedé, mis chiquititas Memis y Olis, al Gusti. A Nora por su interés y apertura.

A Paola por invitarme a este nuevo encuentro, que me permitió reconocer a Marcelo, a Paulis, y a la recién llegada Merce.

A Mónica y Luis por su presencia y apoyo permanente.

También quiero agradecer a mis directores Pablo Beldomenico y Pablo Carmanchahi por el apoyo y dedicación brindados.

A mis compañeros de campo de siempre, al grupo de guanacos: A Pau, Naty, Chino, y Ramiro.

Al personal del IMBECU: Mariella, Graciela, Juan, Norma, Susana, y Teo; gracias a quienes pude realizar las determinaciones hormonales sintiéndome como en casa.

Al cuerpo de guardaparques de Malargüe. Lucas Aros, Julián Baroneto, Fabián Guiñazu, Luciana Quiroga, Martín Palma, Carlos Rojas, Guillermo Sánchez, Simón Ocampo, Aníbal Soto, Edgardo Soto, Darío Navas, Marcos Vázquez, Apolinario Lineros, Gonzalo Araujo, Eduardo Chamorro, Sebastián Caprio, Daniela Valdez, Mauricio Figueroa, Emanuel Cruces, Alejandro Calise, Jimena Martínez Chavez y Johnatan Blanco, por su incondicional apoyo y familiaridad en las hermosas estadias en Payunia.

A la Dirección de Recursos Naturales Renovables de la provincia de Mendoza por permitirme utilizar las instalaciones de las seccionales de guardaparques.

A los muchachos de Fortunoso, Jorge, al enfermero, al bailarín de malambo, al alquimista, a Tuco el cocinero, por las buenas cenas compartidas.

A todos los integrantes del Lecen: Lucas, Andrea, Valeria, Majo, Tato, Nanu, Pablo Cuervo, y a Aye y Darío muy especialmente.

A la cátedra de Parasitología de la FCV, UNL: Vivi, Flor, Dana, Rafa, Guido, Anita, Gaby, Seba, y a Peralta! por “adoptarme” en su laboratorio en los primeros copros. A Alvarito, Pablo Blanché, y Axel por bancarme mis primeros días en un mundo nuevo.

Al grupo Capibara!!! Dany, Seba Ipa, Seba Alvarado, Nanu, Darío, Gusty.

A todos los chicos que me dieron alguna mano, como pasantes, y de puras ganas de ayudar nomás: Nico Welschen, Mateo, Ulises, Merce, Sole, Fede, Caro, Nanu de nuevo, Darío, y Darío, y Darío de nuevo, Dany, Fabián, Euge Marcoti, Tincho, Piki, Dani Lamatina, Ana Belaus. A ROMITI!! por ayudarme en el campo, en el laboratorio y en todo lo que le pedí siempre...

A la gente de la cooperativa Payun Matru: Don Soto, Efraín, Polito, la Pancha, Roberto Maya, Don Segundo Secundino Maya, Doña Maya, Eleuterio, Raúl, Axel, Sebastián, Armandina. A Maco, Andrés Novaro, Caro Marull y Virginia Rago de WCS.

Al personal de la granja la Esmeralda, Antonio y Daniel.

A Javier Macario, a Raquel Perassi, y Lisandro Haegui.

A Pety y Mariana, guardaparques del Parque Nacional El Leoncito, por el apoyo en los inicios de este gran sueño.

A los evaluadores de la tesis: Mariella Superina, Graciela Navone y Gisela Marcoppido por los valiosos aportes para el crecimiento del manuscrito.

AL IADIZA Y SUS CAMIONETAS!!

A todos Ustedes...les estaré eternamente agradecido

Este trabajo también fue posible gracias al aporte económico de los siguientes subsidios:

“Building Capacity for Management of the Payunia-Auca Mahuida Guanaco Corridor in Patagonia” Financiado por United States Fish and Wildlife Service. Division of International Conservation. Wildlife Without Borders - Latin America and The Caribbean.

“Análisis de la calidad de dieta en poblaciones de guanacos silvestres (*Lama guanicoe*): Implicancias para el manejo y la conservación de la especie” Financiado por CONICET, PIP 11220100100100386.

“Generación de un modelo de producción integral para regiones áridas y semiáridas: Bases biológicas y socio-productivas para el uso sostenible de guanacos silvestres” Financiado por la Agencia-FONCYT, PICT-2010-1305.

“The dynamics of health of wildlife populations: what can faeces tell us?”: Financiado por la Agencia-FONCYT, PICT-2010-2202.

Idea Wild: Using feces to assess health dynamics in wild guanaco populations. (Pablo Moreno) 2011.

Conicet, Becas internas de posgrado tipo I y tipo II

De Naty Schroeder: Cleveland Metro Park Zoo, Sigma Xi, Idea Wild

De Pau Taraborelli: PIP, Idea Wild

De Ramiro Ovejero: Rufford, Idea Wild

Del Chino Gregorio: Idea Wild

BIBLIOGRAFÍA

Acebes, P.; Traba, J. y Malo, J.E. (2012) Co-occurrence and potential for competition between wild and domestic large herbivores in a South American desert. *J. Arid. Environ.* 77: 39-44.

Acevedo-Whitehouse, K. y Duffus, A.L. (2009) Effects of environmental change on wildlife health. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 364: 3429-3438.

Alamer, M. (2006) Physiological responses of Saudi Arabia indigenous goats to water deprivation. *Small Ruminant Res.* 63: 100-109.

Alexander, J. y Stimson, W.H. (1988) Sex hormones and the course of parasitic infection. *Parasitol. Today.* 4: 189-193.

Altizer, S.; Nunn, C.L.; Thrall, P.H.; Gittleman, J.L.; Antonovics, J.; Cunningham, A.A.; Cunningham, A.A.; Dobson, A.P.; Ezenwa, V.; Jones, K.E.; Pedersen, A.B.; Poss, M., y Pulliam, J.R.C. (2003) Social organization and parasite risk in mammals: integrating theory and empirical studies. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34: 517-547.

Alzaga, V.; Vicente, J.; Villanua, D.; Acevedo, P.; Casas, F., y Gortazar, C. (2008) Body condition and parasite intensity correlates with escape capacity in Iberian hares (*Lepus granatensis*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 62: 769-775.

Anderson, D.E.; Grubb, T.A. y Silveira, F. (1999) The effect of short duration transportation on serum cortisol response in alpacas (*Lama pacos*). *Vet. J.* 157: 189-191.

Arias, N.; Requena, M. y Palme, R. (2013) Measuring faecal glucocorticoid metabolites as a non-invasive tool for monitoring adrenocortical activity in South American camelids. *Anim. Welfare.* 22: 25-31.

Arriero, E.; Moreno, J.; Merino, S., y Martínez, J. (2008) Habitat effects on physiological stress response in nestling blue tits are mediated through parasitism. *Physiol. Biochem. Zool.* 81: 195-203.

- Arzamendia y.; Bonacic, C. y Vilá, B. (2010) Behavioural and physiological consequences of capture for shearing of vicuñas in Argentina. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 125: 163-170.
- Ashley, N.T.; Barboza, P.S.; Macbeth, B.J.; Janz, D.M.; Cattet, M.R.L.; Booth, R.K. y Wasser, S.K. (2011) Glucocorticosteroid concentrations in feces and hair of captive caribou and reindeer following adrenocorticotropic hormone challenge. *Gen. Comp. Endocrinol.* 172: 382-391.
- Avrameas, S. (1991) Natural autoantibodies: from "horror autotoxicus" to "gnothi seauton". *Immunol. Today* 12: 154-159.
- Axelrod, J. y Reisine, T.D. (1984) Stress hormones: Their interaction and regulation. *Science.* 224: 452-459.
- Baigún, R. (2008) Manejo de fauna silvestre en la Argentina: Primer censo nacional de camélidos silvestres al norte del Río Colorado. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación.
- Baldi, R.; Albon, S. y Elston, D. (2001) Guanacos and sheep: evidence for continuing competition in arid Patagonia. *Oecologia.* 129: 561-570.
- Baldi, R.; Pelliza-Sbriller, A.; Elston, D. y Albon, S. (2004) High potential for competition between guanacos and sheep in Patagonia. *J. Wildl. Manage.* 68: 924-938.
- Baldi, R.; Lichtenstein, G.; González, B.; Funes, M.; Cuéllar, E.; Villalba, L.; Hoces, D. y Puig, S. (2008) Lama guanicoe. En: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2013.2.
- Baldi, R.; de Lamo, D.; Failla, B.M.; Ferrando, P.; Nugent, P.; Puig, S. y Rivera, S. (2006) Plan Nacional de Manejo del Guanaco (Lama guanicoe). Secretaría de Ambiente y desarrollo Sustentable de la Nación.
- Baldi, R.; Novaro, A.; Walker, S.; Funes, M.; Ferrando, P.; Failla, M. y Carmanchahi, P. (2010) Guanaco management in Patagonian rangelands: a conservation opportunity on the brink of collapse. En: *Wild rangelands: Conserving wildlife while maintaining*

- livestock in semi-arid ecosystem (Eds: J. Du Toit, R. Kock y J. Deutsch) Wiley-Blackwell, p. 266-290.
- Ballweber, L.R. (2009) Ecto-and endoparasites of New World camelids. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 25: 295-310.
- Baltic, M.; Jenni-Eiermann, S.; Arlettar, R. y Palme, R. (2005) A noninvasive technique to evaluate human-generated stress in the black grouse. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1046: 81-95.
- Bank, M.S y Franklin, W.L. (1998) Mountain lion (*Puma concolor patagonica*) feeding observations and attacks on guanacos (*Lama guanicoe*). *Mammalia*. 62: 599-605.
- Becklund, W.W. (1963) *Lamanema chavezi* gen. n., sp. n. and *Nematodirus lamae* sp. n. (Nematoda: Trichostrongylidae) from the Alpaca, *Lama pacos*, and the Vicuña, *Vicugna vicugna*, in Peru. *J. Parasitol.* 49: 1023-102.
- Beldomenico, P.M.; Uhart, M.; Bono, M.F.; Marull, C.; Baldi, R. y Peralta, J.L. (2003) Internal parasites of free-ranging guanacos from Patagonia. *Vet. Parasitol.* 118: 71-77.
- Beldomenico, P.M. y Begon, M. (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol. Evol.* 25: 21-27.
- Beltrán-Saavedra, L.F.; Nallar-Gutiérrez, R.; Ayala, G.; Limachi, J.M. y Gonzales-Rojas, J.L. (2011) Estudio sanitario de vicuñas en silvestría del Área Natural de Manejo Integrado Nacional Apolobamba, Bolivia. *Ecol. Bolivia*. 46: 14-27.
- Benker, G.; Raida, M.; Olbricht, T.; Wagner, R.; Reinhardt, W. y Reinwein, D. (1990) TSH secretion in Cushing's syndrome: relation to glucocorticoid excess, diabetes, goitre, and the sick euthyroid syndrome. *Clin.Endocrinol. (Oxf)*. 33: 777-786.
- Berga, S.L. (2008) Stress and reproduction: a tale of false dichotomy? *Endocrinology*. 149: 867-868.
- Bermúdez, A. y Delpino, D. (1989) La provincia basáltica andino cuyana. *Rev. Asoc. Geol. Argent.* 44: 35-55.

- Bertolino, S.; Hofmannova, L.; Girardello, M. y Modry, D. (2010) Richness, origin and structure of an *Eimeria* community in a population of Eastern cottontail (*Sylvilagus floridanus*) introduced into Italy. *Parasitology*. 137: 1179-1186.
- Boes, M. (2000) Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses. *Mol. Immunol.* 37: 1141-1149.
- Bonacic, C. y Macdonald, D.W. (2003) The physiological impact of wool-harvesting procedures in vicuñas (*Vicugna vicugna*). *Anim. Welfare*. 12: 387-402.
- Bonacic, C.; Feber, R.E. y Macdonald, D.W. (2006) Capture of the vicuña (*Vicugna vicugna*) for sustainable use: Animal welfare implications. *Biol. Conserv.* 129: 543-550.
- Boonstra, R. (2004) Coping with changing northern environments: the role of the stress axis in birds and mammals. *Integr. Comp. Biol.* 44: 95-108.
- Boonstra, R. (2005) Equipped for life: the adaptive role of the stress axis in male mammals. *J. Mammal.* 86: 236-247.
- Boughton, R.K.; Joop, G., y Armitage, S.A. (2011) Outdoor immunology: methodological considerations for ecologists. *Funct. Ecol.* 25: 81-100.
- Bown, M.D.; Poppi, D.P. y Sykes, A.R. (1991) Nitrogen transactions along the digestive tract of lambs concurrently infected with *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta*. *Br. J. Nutr.* 66: 237-249.
- Bravo, P.W.; Garnica, J. y Aviles, E. (2001) Cortisol concentrations in the perinatal and weaning periods of alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 67: 125-129.
- Brown, M.J.; Schmid-Hempel, R. y Schmid-Hempel, P. (2003) Strong context-dependent virulence in a host-parasite system: reconciling genetic evidence with theory. *J. Anim. Ecol.* 72: 994-1002.
- Bubenik, G.A.; Bubenik, A.B.; Schams, D. y Leatherland, J.F. (1983) Circadian and circannual rhythms of LH, FSH, testosterone (T), prolactin, cortisol, T3 and T4 in plasma of mature, male white-tailed deer. *Comp. Biochem. Physiol., A: Physiology*. 76: 37-45.

- Bundy, D.A.; Cooper, E.S.; Thompson, D.E.; Anderson, R.M., y Didier, J.M. (1987) Age-related prevalence and intensity of *Trichuris trichiura* infection in a St. Lucian community. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81: 85-94.
- Burguera, B.; Muruais, C.; Penalva, A.; Dieguez, C. y Casanueva, F.F. (1990) Dual and selective actions of glucocorticoids upon basal and stimulated growth hormone release in man. *Neuroendocrinology* 51: 51-58.
- Bustanza, J.; Sánchez, C. y Choque, J. (1982) Parásitos identificados en vicuñas de Pampa Galeras. En: *Proceedings of the II Convención Nacional Multisectorial de Desarrollo de Camélidos Sudamericanos*, Lima, Perú.
- Cabrera, A. y Yepes, J. (1940) Mamíferos Sudamericanos vida, costumbres y descripción. En: *Historia Natural Ediar*. Compañía Argentina de Editores, Buenos Aires, Argentina.
- Cabrera, A.L. (1947) La estepa patagónica. *Geografía de la República Argentina*. 8: 249-304.
- Cabrera, A.L. (1971) Fitogeografía de la República Argentina. *Soc. Argent. Bot. Bol.* 14: 1-42.
- Cafrune, M.M.; Marín, R.E.; Rigalt, F.; Romero, S.R. y Aguirre, D.H. (2009) *Lamanema chavezii* (Nematoda: Molineidae): epidemiological data of the infection in South American camelids of Northwest Argentina. *Vet. Parasitol.* 166: 321-325.
- Cafrune, M.M.; Marín, R.E.; Rigalt, F.; Romero, S.R. y Aguirre, D.H. (2009) Prevalence of *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* in South American camelids of Northwest Argentina. *Vet. Parasitol.* 162: 338-341.
- Cafrune, M.M.; Aguirre, D.H. y Rickard, L.G. (1999) Recovery of *Trichuris tenuis* Chandler, 1930, from camelids (*Lama glama* and *Vicugna vicugna*) in Argentina. *J. Parasitol.* 85: 961-962.
- Cafrune, M.M.; Aguirre, D.H. y Rickard, L.G. (2001) First report of *Lamanema chavezii* (Nematoda: Trichostrongyloidea) in llamas (*Lama glama*) from Argentina. *Vet. Parasitol.* 97: 165-168.

- Candia, R.; Puig, S.; Dalmasso, A.; Videla, F. y Martínez Carretero E. (1993) Diseño del plan de manejo para la reserva provincial La Payunia (Malargüe, Mendoza). *Multequina*. 2: 5-87.
- Capitanelli, R.G. (1967) Climatología de Mendoza. *Bol. Est. Geogr.* 14 (54-57): 1-141.
- Carmanchahi, P.D. (2009) Informe de los relevamientos poblacionales y experiencias de captura y esquila de guanacos silvestres. Programa: Uso sustentable de guanacos silvestres en la Reserva Provincial La Payunia, Malargüe, Mendoza. Dirección de Recursos Naturales Renovables, Ministerio de Ambiente y Obras Públicas, Mendoza, Argentina.
- Carmanchahi, P.D.; Ovejero, R.; Marull, C.; López, G.C.; Schroeder, N.; Jahn, G.A.; Novaro, A.J. y Somoza, G.M. (2011) Physiological response of wild guanacos to capture for live shearing. *Wildl. Res.* 38: 61-68.
- Caro, T. (1998) Behavioral ecology and conservation biology. (Ed.: Timothy Caro) Oxford University Press, New York, United States of America. 582 p.
- Casali P. y Schettino E.W. (1996) Structure and function of natural antibodies. *Curr.Top.Microbiol.Immunol.* 210: 167-179.
- Castillo, D.; Chávez, V.; Hoces, R.; Casas, A.; Rosadio, A. y Wheeler, J.C. (2008) Contribución al estudio del parasitismo gastrointestinal en guanacos (*Lama guanicoe cacsilensis*). *Rev. investig. vet. Perú.* 19: 168-175.
- Cattadori, I.M.; Boag, B.; Bjornstad, O.N.; Cornell, S.J., y Hudson, P.J. (2005) Peak shift and epidemiology in a seasonal host-nematode system. *Proc. R. Soc. Biol. Sci. Ser. B.* 272: 1163-1169.
- Cebra, C.K.; Mattson, D.E.; Baker, R.J.; Sonn, R.J. y Dearing, P.L. (2003) Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223: 1806-1808.
- Cebra, C.K.; Valentine, B.A.; Schlipf Jr, J.W.; Bildfell, R.J.; McKenzie, E.; Waitt, L.H.; Heidel, J.R.; Cooper, B.J.; Löhr, C.V. y Bird, K.E. (2007) *Eimeria macusaniensis* infection in 15 llamas and 34 alpacas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 230: 94-100.

- Cebra, C.K. y Stang, B.V. (2008) Comparison of methods to detect gastrointestinal parasites in llamas and alpacas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 232: 733-741.
- Cerioni, S. y Mariniello, L. (1996) Parasitic metazoans of *Stenella coeruleoalba* (Cetacea: Delphinidae) stranded along the coast of Latium. *Parassitologia.* 38 (3): 505-510.
- Charmandari, E.; Tsigos, C. y Chrousos, G. (2005) Endocrinology of the stress response. *Annu.Rev.Physiol.* 67: 259-284.
- Cook, C.J.; Mellor, D.J.; Harris, P.J.; Ingram, J.R., y Matthews, L.R. (2000) Hands-on and hands-off measurement of stress. En: *The biology of animal stress.* (Eds.: Moberg, G. y Mench, J.A.) CABI Publishing, New York, United States of America. p. 123-146.
- Coop, R.L. y Kyriazakis, I. (2001) Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends Parasitol.* 17: 325-330.
- Correa, L.; Zapata, B. y Soto-Gamboa, M. (2012) Gastrointestinal and blood parasite determination in the guanaco (*Lama guanicoe*) under semi-captivity conditions. *Trop. Anim. Health Prod.* 44: 11-15.
- Corwin, R.M. (1997) Economics of gastrointestinal parasitism of cattle. *Vet. Parasitol.* 72: 451-460.
- Côté, I. y Poulinb, R. (1995) Parasitism and group size in social animals: a meta-analysis. *Behav. Ecol.* 6: 159-165.
- Cotter, P.F.; Ayoub, J. y Parmentier, H.K. (2005) Directional selection for specific sheep cell antibody responses affects natural rabbit agglutinins of chickens. *Poult Sci.* 84: 220-225.
- Cox, D.D. y Todd, A.C. (1962) Survey of gastrointestinal parasitism in Wisconsin dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 141: 706-709.
- Creel, S.; Creel, N.M. y Monfort, S.L. (1996) Social stress and dominance. *Nature.* 379: 12.

Creel, S.; Creel, N.M.; Mills, M.G. y Monfort, S.L. (1997) Rank and reproduction in cooperatively breeding African wild dogs: behavioral and endocrine correlates. *Behav. Ecol.* 8: 298-306.

Cuellar, E. y Fuentes, A. (2000) Censo aereo de guanacos, *Lama guanicoe*, en el Chaco cruceño. *Rev. Bol. Ecol. Conserv. Ambient.* 8: 83-90.

Cunazza, C.; Puig, S. y Villalba, L. (1995) Situación actual del guanaco y su ambiente. En: *Técnicas para el manejo del guanaco.* (Ed.: Puig, S.) UICN, Gland, Suiza. p. 27-50.

Dallman, M.F. (2003) Stress by any other name? *Horm. Behav.* 43: 18-20.

Dalmaso, A.; Martínez Carretero, E.; Videla, F.; Puig, S. y Candia, R. (1999) Reserva natural Villavencio (Mendoza, Argentina). *Plan de Manejo. Multequina* 8: 11-50.

de Lamo, D. (2011) *Camélidos sudamericanos: Historia, usos y sanidad animal.* Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. 37 p.

Deerenberg, C.; Arpanius, V.; Daan, S. y Bos, N. (1997) Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci.* 264: 1021-1029.

Dehnhard, M.; Clauss, M.; Lechner-Doll, M.; Meyer, H. y Palme, R. (2001) Noninvasive monitoring of adrenocortical activity in roe deer (*Capreolus capreolus*) by measurement of fecal cortisol metabolites. *Gen. Comp. Endocrinol.* 123: 111-120.

Dhabhar, F.S. y McEwen, B.S. (1997) Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain, Behav., Immun.* 11: 286-306.

Diaz, G. y Ojeda, R. (2000) Libro rojo de mamíferos amenazados de la Argentina. (Eds.: Diaz, G. y Ojeda, R.) Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos. 106 p.

Díaz, A. y Allen, J.E. (2007) Mapping immune response profiles: the emerging scenario from helminth immunology. *Eur. J. Immunol.* 37: 3319-3326.

- Dickens, M.J.; Delehanty, D.J. y Michael Romero, L. (2010) Stress: an inevitable component of animal translocation. *Biol. Conserv.* 143: 1329-1341.
- Dobson, A.P. y Hudson, P.J. (1992) Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. II. Population models. *J. Anim. Ecol.* 61(2): 487-498.
- Dunlap, K.D. y Schall, J.J. (1995) Hormonal alterations and reproductive inhibition in male fence lizards (*Sceloporus occidentalis*) infected with the malarial parasite *Plasmodium mexicanum*. *Physiol. Zool.* 68 (4): 608-621.
- Düwel, D. (1987) Mehrjährige panacur-behandlungen im winter zur kontrolle des nematoden-befalls bei rehen (*Capreolus capreolus* L.). *Z. Jagdwiss.* 33: 242-248.
- Eberhardt, A.T.; Costa, S.A.; Marini, M.R.; Racca, A.; Baldi, C.J.; Robles, M.R.; Moreno, P.G. y Beldomenico, P.M. (2013) Parasitism and physiological trade-offs in stressed capybaras. *PLoS ONE.* 8(7): e70382.
- Elsasser, T.H.; Klasing, K.C.; Filipov, N. y Thompson, F. (2000) The metabolic consequences of stress: targets for stress and priorities of nutrient use. En: *The biology of animal stress.* (Eds.: Moberg, G. y Mench, J.A.) CABI Publishing, New York, United States of America. p. 77-110.
- FAO (1985) Manejo de fauna silvestre y desarrollo rural. Información sobre siete especies de América Latina y el Caribe. Documento técnico nro 2. Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Proyecto FAO-PNUMA sobre manejo de áreas silvestres, áreas protegidas y vida silvestre en América Latina y el Caribe.
- Fiel, C.; Steffan, P. y Ferreyra, D. (2011) Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes: técnicas de diagnóstico e interpretación de resultados. (Eds.: Fiel, C.; Steffan, P.; Ferreyra, D.) Pfizer, Tandil, Argentina. 131 p.
- Folstad, I. y Karter, A.J. (1992) Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *Am.Nat.* 139(3): 603-622.
- Foreyt, W.J. y Lagerquist, J. (1992) Experimental infections of *Eimeria alpaca* and *Eimeria punoensis* in llamas (*Lama glama*). *J. Parasitol.* 78: 906-909.

- Foreyt, W.J. (2001) Veterinary parasitology reference manual. Iowa State University Press, Iowa, United States of America. 241 p.
- Fowler, M. (1989) Llama medicine. Physical examination, restraint and handling. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 5: 27-35.
- Fowler, M.E. y Zinkl, J.G. (1989) Reference ranges for hematologic and serum biochemical values in llamas (*Lama glama*). *Am. J. Vet. Res.* 50: 2049-2053.
- Fowler, M. (2011) Medicine and surgery of camelids. Blackwell Publishing, Iowa, United States of America. 630 p.
- Fox, M.T. (1997) Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Vet. Parasitol.* 72: 285-308.
- Franklin, W.L. (1983) Contrasting socioecologies of South American wild camelids: The vicuña and the guanaco. *Advances in the study of mammalian behavior* (Eds.: Eisenberg, J.F. y Kleiman, D.G.) Special Publication 7: 573-629.
- Franklin, W.L. (1982) Biology, ecology, and relationship to man of the South American camelids. *Mammalian Biology in South America*. (Eds.: Mara, M.A. y Genoways, M.M.). Pittsburgh, United States of America. 6: 457-489.
- Franklin, W.L.; Bas, F.M.; Bonacic, C.F.; Cunazza, C. y Soto, N. (1997) Striving to manage Patagonia guanacos. *Wildl. Soc. Bull.* 25: 65-73.
- Garay, G.; Franklin, W.L.; Sarno, R.J. y Johnson, W.E. (1995) Development of juvenile guanaco social behavior: first study on a wild population from the Chilean Patagonia. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 68: 429-438.
- Goldstein, E.J.; Millspaugh, J.J.; Washburn, B.E.; Brundige, G.C. y Raedeke, K.J. (2005) Relationships among fecal lungworm loads, fecal glucocorticoid metabolites, and lamb recruitment in free-ranging Rocky Mountain bighorn sheep. *J. Wildl. Dis.* 41: 416-425.

- González, B.A.; Palma, R.E.; Zapata, B. y Marín, J.C. (2006) Taxonomic and biogeographical status of guanaco *Lama guanicoe* (Artiodactyla, Camelidae). *Mamm. Rev.* 36: 157-178.
- Gorman, T.R.; Alcaíno, H.A.; Muñoz, H. y Cunazza, C. (1984) *Sarcocystis* sp. in guanaco (*Lama guanicoe*) and effect of temperature on its viability. *Vet. Parasitol.* 15: 95-101.
- Goymann, W. (2005) Noninvasive monitoring of hormones in bird droppings: physiological validation, sampling, extraction, sex differences, and the influence of diet on hormone metabolite levels. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1046: 35-53.
- Goymann, W.; Möstl, E.; Vant Hof, T.; East, M.L. y Hofer, H. (1999) Noninvasive fecal monitoring of glucocorticoids in spotted hyenas, *Crocuta crocuta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 114: 340-348.
- Graham, A.L. (2008) Ecological rules governing helminth-microparasite coinfection. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 566-570.
- Griffin, J.F. (1989) Stress and immunity: a unifying concept. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 20: 263-312.
- Groeber, P. (1947) Observaciones geológicas a lo largo del meridiano 70: 3. Hojas Domuyo, Mari Mahuida, Huarhuar-Co y parte de Epu Lauquen; 4. Hojas Bardas Blancas y Los Molles. *Revista de la Sociedad Geologica Argentina, Tomo II.*
- Grossman, C.J. (1985) Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science* 227: 257-261.
- Guerrero, C. (1967) *Coccidia* (Protozoa: Eimeriidae) of the Alpaca *Lama pacos*. *J. Protozool.* 4: 613-616.
- Guerrero, C.; Hernández, J.H.B. y Alva, J. (1971) *Eimeria macusaniensis* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae) of the Alpaca *Lama pacos*. *J. Protozool.* 18: 162-163.
- Guerrero, C.L.G. (1987) Enfermedades infecciosas y parasitarias de alpacas. *Rev. Camélidos Sudamericanos.* 4: 32-82.

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

Halvorsen, O.; Stien, A.; Irvine, J.; Langvatn, R. y Albon, S. (1999) Evidence for continued transmission of parasitic nematodes in reindeer during the Arctic winter. *Int. J. Parasitol.* 29: 567-579.

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

Harrison, J.A. (1985) Giant camels from the Cenozoic of North America. *Smithson. Contrib. Paleobiol.* 5-7: 1-29.

Henriksen, S.V. y Korsholm, H. (1983) A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. *Nord.Vet.Med* 35: 429-430.

Hirschenhauser, K.; Kotrschal, K. y Möstl, E. (2005) Synthesis of measuring steroid metabolites in goose feces. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1046: 138-153.

Hoste, H. (2001) Adaptive physiological processes in the host during gastrointestinal parasitism. *Int. J. Parasitol.* 31: 231-244.

Huber, S.; Palme, R. y Arnold, W. (2003) Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 130: 48-54.

Hudson, P.J. y Dobson, A.P. (1995) Macroparasites: observed patterns in naturally fluctuating animal populations. En: *Ecology of infectious diseases in natural populations* (Eds.: Grenfell, B. y Dobson, A.) Cambridge University Press. Melbourne, Australia. p. 144-176.

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

Hudson, P.; Rizzoli, A.P.; Grenfell, B.; Heesterbeek, J.A.P. y Dobson, A.P. (2002) Ecology of wildlife diseases. (Eds.: Hudson, P.; Rizzoli, A.P.; Grenfell, B.; Heesterbeek,

J.A.P. y Dobson, A.P.) Oxford University Press. New York, United States of America. 197 p.

Huete, A.; Didan, K.; Miura, T.; Rodriguez, E.P.; Gao, X. y Ferreira, L.G. (2002) Overview of the radiometric and biophysical performance of the MODIS vegetation indices. *Remote Sens. Environ.* 83: 195-213.

Hurtado, E.B. (1985) Estudio parasitológico en llamas (*Lama glama*) del altiplano peruano. Proceedings of the V Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco, Perú.

Hurtado, E.B. (1985) Parasitismo gastrointestinal por examen de heces en guanaco (*Lama guanicoe*). Proceedings of the V Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos. Cusco, Perú.

Issia, L.; Pietrokovsky, S.; Sousa-Figueiredo, J.; Stothard, J.R. y Wisnivesky-Colli, C. (2009) *Fasciola hepatica* infections in livestock flock, guanacos and coypus in two wildlife reserves in Argentina. *Vet. Parasitol.* 165: 341-344.

Jarvinen, J.A. (1999) Prevalence of *Eimeria macusaniensis* (Apicomplexa: Eimeriidae) in midwestern *Lama* spp. *J. Parasitol.* 85: 373-376.

Jarvinen, J.A. (2008) Infection of llamas with stored *Eimeria macusaniensis* oocysts obtained from guanaco and alpaca feces. *J. Parasitol.* 94: 969-972.

Johnson, A.L.; Stewart, J.E. y Perkins, G.A. (2009) Diagnosis and treatment of *Eimeria macusaniensis* in an adult alpaca with signs of colic. *Vet. J.* 179: 465-467.

Jolles, A.E.; Ezenwa, V.O.; Etienne, R.S.; Turner, W.C. y Olf, H. (2008) Interactions between macroparasites and microparasites drive infection patterns in free-ranging African buffalo. *Ecology* 89: 2239-2250.

Jones, W.O. y Symons, L.E.A. (1982) Protein synthesis in the whole body, liver, skeletal muscle and kidney cortex of lambs infected by the nematode *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 12: 295-301.

- Karesh, W.B.; Uhart, M.M.; Dierenfeld, E.S.; Braselton, W.E.; Torres, A.; House, C.; Puche, H. y Cook, R.A. (1998) Health evaluation of free-ranging guanaco (*Lama guanicoe*). *J.Zoo Wildl. Med.* 29 (2): 134-141.
- Kiorpes, A.L.; Kirkpatrick, C.E. y Bowman, D.D. (1987) Isolation of *Giardia* from a llama and from sheep. *Can. J. Vet. Res.* 51: 277-280.
- Kleinsasser, C.; Graml, C.; Klobetz-Rassam, E.; Barth, K.; Waiblinger, S. y Palme, R. (2010) Physiological validation of a non-invasive method for measuring adrenocortical activity in goats. *Wien. Tierärztl. Monschr.* 97: 259-262.
- Konjevic, D.; Janicki, Z.; Slavica, A. y Palme, R. (2011) Non-invasive monitoring of adrenocortical activity in free-ranging fallow deer (*Dama dama* L.). *Eur. J. Wildl. Res.* 57: 77-81.
- Kuzmina, T.; Kharchenko, V. y Malega, A. (2010) Helminth fauna of roe deer (*Capreolus capreolus*) in Ukraine: biodiversity and parasite community. *Vestn.Zool.* 44: e-12.
- Larrieu, E.; Bigati, R.; Eddi, C.; Bonazzi, E.; Gomez, E.; Niec, R. y Oporto, N. (1982) Contribución al estudio del estudio del parasitismo gastrointestinal en guanacos (*Lama guanicoe*) y llamas (*Lama glama*). *Gaceta Vet.* 54: 958-960.
- Le Jambre, L.F. (1995) Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production in *Haemonchus* infected sheep. *Int. J. Parasitol.* 25: 269-273.
- Leguía, G. (1991) The Epidemiology and Economic Impact of Llama Parasites. *Parasitol. Today.* 7: 2.
- Leguía, G. (1997) Acute and subacute fasciolosis of alpacas (*Lama pacos*) and treatment with triclabendazole. *Trop. Anim. Hlth Prod.* 29: 31-32.
- Leguía, G. y Casas, E. (1998) *Eimeria ivitaensis* (Protozoa: Eimeridae) en alpacas *Lama pacos*. *Rev.Per.Parasitol* 13: 59-61.
- Leguía, G. (1999) Enfermedades Parasitarias de Camélidos Sudamericanos. Primera Edición (Ed.: Díaz Vargas, F.). Editorial de Mar EIRL. Lima, Perú. 191 p.

- Levine, N.D. y Ivens, V. (1970) The coccidian parasites (Protozoa, Sporozoa) of ruminants. *Ill. Biol. Monogr.* 44: 10-13.
- Lexen, E.; El-Bahr, S.M.; Sommerfeld-Stur, I.; Palme, R. y Möstl, E. (2008) Monitoring the adrenocortical response to disturbances in sheep by measuring glucocorticoid metabolites in the faeces. *Wien. Tierärztl. Monshr.* 95(3/4): 64.
- Lichtenstein, G. y Carmanchahi, P.D. (2012) Guanaco management by pastoralists in the Southern Andes. *Pastoralism* 2: 1-16.
- Llambías, E.J.; Bertotto, G.W.; Risso, C. y Hernando, I. (2010) El volcanismo cuaternario en el retroarco de Payenia: una revisión. *Rev. Asoc. Geol. Argent.* 67: 278-300.
- Lochmiller, R.L. y Deerenberg, C. (2000) Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* 88: 87-98.
- López-Calderon, A. (1999) Glándulas suprarrenales. *Fisiología humana*, 2da edición. (Ed.: Tresguerres, J.A.F.) Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid, España. p. 931-952.
- López Aranguren, D.J. (1930) Camélidos fósiles argentinos. *An. Soc. Cient. Argent.* 109: 15-39.
- MacAdams, M.R.; White, R.H. y Chipps, B.E. (1986) Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy. *Ann.Intern.Med.* 104: 648-651.
- MacRae, J.C. (1993) Metabolic consequences of intestinal parasitism. *Proc. Nutr. Soc.* 52: 121-121.
- Manfredi, M.T. (2006) Biology of gastrointestinal nematodes of ruminants. *Parassitologia* 48: 397-401.
- Marcoppido, G.; Parreño, V., y Vilá, B. (2010) Antibodies to pathogenic livestock viruses in a wild vicuña (*Vicugna vicugna*) population in the argentinean andean altiplano. *J. Wildl. Dis.* 46: 608-614.
- Martínez Carretero, E. (2004) La provincia fitogeográfica de la Payunia. *Bol.Soc.Argent.Bot* 39: 195-226.

- Mastorakos, G.; Bamberger, C. y Chrousos, G.P. (1999) Neuroendocrine regulation of the immune process. En: Cytokines: stress and immunity. (Eds.: Plotnikoff, N.; Faith, R.; Murgo, A. y Good, R.) CRC Press Taylor & Francis Group. Florida, United States of America. p. 17-37.
- Matson, K.D.; Ricklefs, R.E. y Klasing, K.C. (2005) A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Dev.Comp.Immunol.* 29: 275-286.
- Matteri, R.L.; Carroll, J.A. y Dyer, C.J. (2000) Neuroendocrine responses to stress. En: The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare. (Eds.: Moberg, G.P. y Mench, J.A.). CABI Publishing. New York, United States of America. p. 43-77.
- Maule, A.G. y VanderKooi, S.P. (1999) Stress-induced immune-endocrine interaction. En: Stress physiology in animals. Sheffield Academic Press Ltd. United States of America. p. 205-245.
- McDonald, V. y Shirley, M.W. (2009) Past and future: vaccination against *Eimeria*. *Parasitology* 136: 1477-1489.
- McEwen, B.S. (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol. Rev.* 87: 873-904.
- Miller, M.W.; Hobbs, N.T. y Sousa, M.C. (1991) Detecting stress responses in Rocky Mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*): reliability of cortisol concentrations in urine and feces. *Can. J. Zool.* 69: 15-24.
- Millspaugh, J.J.; Woods, R.J.; Hunt, K.E.; Raedeke, K.J.; Brundige, G.C.; Washburn, B.E. y Wasser, S.K. (2001) Fecal glucocorticoid assays and the physiological stress response in elk. *Wildl. Soc. Bull.* 29(3): 899-907.
- Millspaugh, J.J.; Washburn, B.E.; Milanick, M.A.; Beringer, J.; Hansen, L.P. y Meyer, T.M. (2002) Non-invasive techniques for stress assessment in white-tailed deer. *Wildl. Soc. Bull.* 30 (3): 899-907.

- Millspaugh, J.J. y Washburn, B.E. (2004) Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 138: 189-199.
- Moller, A.P.; Christe, P.; Erritzoe, J. y Mavarez, J. (1998) Condition, disease and immune defence. *Oikos* 83: 301-306.
- Moreno, P.G.; Eberhardt, M.A.T.; Lamattina, D.; Previtali, M.A. y Beldomenico, P.M. (2013) Intra-phylum and inter-phyla associations among gastrointestinal parasites in two wild mammal species. *Parasitol.Res.* 112: 3295-3304.
- Möstl, E.; Maggs, J.L.; Schrötter, G.; Besenfelder, U. y Palme, R. (2002) Measurement of cortisol metabolites in faeces of ruminants. *Vet.Res.Comm.* 26: 127-139.
- Murphy, K. (2011) *Janeway's immunobiology*. Garland Science, Taylor & Francis. New York, United States of America. 868 p.
- Murray, D.L.; Cary, J.R. y Keith, L.B. (1997) Interactive effects of sublethal nematodes and nutritional status on snowshoe hare vulnerability to predation. *J. Anim. Ecol.* 66 (2): 250-264.
- Navone, G.T. y Merino, M.L. (1989) Contribución al conocimiento de la fauna endoparasitaria de *Lama guanicoe* Müller, 1776, de Península Mitre, Tierra del Fuego, Argentina. *Bol.chil.parasitol* 44: 46-51.
- Nelson, R.J. y Demas, G.E. (1996) Seasonal changes in immune function. *Q. Rev. Biol.* 511-548.
- Newey, S.; Thirgood, S.J. y Hudson, P.J. (2004) Do parasite burdens in spring influence condition and fecundity of female mountain hares *Lepus timidus*? *Wildl. Biol.* 10: 171-176.
- Niec, R. (1968) Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. INTA. Manual técnico 3.

- Novaro, A.; Walker, S.; Bolgeri, M.; Berg, J.; Rivas, L. y Carmanchahi, P. (2006) Movimientos estacionales en la población de guanacos de La Payunia. Tercer informe de avance. Wildlife Conservation Society-CONICET.
- Nugent, P.; Baldi, R.; Carmanchahi, P.; de Lamo, D.; Failla, M.; Ferrando, P.; Funes, M.; Puig, S.; Rivero, S. y von Thungen, J. (2006) Conservación del guanaco en la Argentina, propuesta para un Plan Nacional de Manejo. Manejo de Fauna Silvestre en Argentina, Programas de Uso Sustentable. (Eds.: Bolkovic, M. y Ramadori, D.) Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Buenos Aires, Argentina. p. 137-149.
- Ojeda, R.A., Diaz, G. y Chillo, V. (2012) Libro rojo de mamíferos de Argentina. (Eds.: Ojeda, R.A., Diaz, G. y Chillo, V.) Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos. 257 p.
- Ortega, I.M. y Franklin, W.L. (1995) Social organization, distribution and movements of a migratory guanaco. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 68: 489-500.
- Ottaviani, E. y Franceschi, C. (1996) The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. *Prog. Neurobiol.* 48: 421-440.
- Ovejero, R.A. (2013) Variación del nivel de cortisol en función de factores sociales y ambientales en guanacos (*Lama guanicoe*). Implicancias para la conservación y manejo de las poblaciones silvestres. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Argentina.
- Ovejero, R.; Novillo, A.; Soto-Gamboa, M.; Mosca-Torres, M.E.; Cuello, P.; Gregorio, P.; Jahn, G. y Carmanchahi, P. (2013) Do cortisol and corticosterone play the same role in coping with stressors? Measuring glucocorticoid serum in free-ranging guanacos (*Lama guanicoe*). *J. Exp. Zool. Part A Ecol. Genet.* 319: 539-547.
- Pacala, S.W. y Dobson, A.P. (1988) The relation between the number of parasites/host and host age: population dynamic causes and maximum likelihood estimation. *Parasitology* 96: 197-210.
- Pakandl, M. (2009) Coccidia of rabbit: a review. *Folia Parasitol.* 56: 153-166.

- Palacios, C.A.; Perales, R.A.; Chavera, A.E.; Lopez, M.T.; Braga, W.U. y Moro, M. (2006) *Eimeria macusaniensis* and *Eimeria ivitaensis* co-infection in fatal cases of diarrhoea in young alpacas (*Lama pacos*). *Vet. Rec.* 158: 344-345.
- Palme, R.; Robia, C.H.; Messmann, S.; Hofer, J. y Möstl, E. (1999) Measurement of faecal cortisol metabolites in ruminants: a non-invasive parameter of adrenocortical function. *Wien. Tieraerztl. Mon Schr.* 86: 237-241.
- Palme, R.; Rettenbacher, S.; Touma, C.; El-Bahr, S.M. y Möstl, E. (2005) Stress hormones in mammals and birds: comparative aspects regarding metabolism, excretion, and noninvasive measurement in fecal samples. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1040: 162-171.
- Parreño, V.; Costantini, V.; Cheetham, S.; Blanco Viera, J.; Saif, L.J.; Fernández, F.; Leoni, L. y Schudel, A. (2001) First isolation of rotavirus associated with neonatal diarrhoea in guanacos (*Lama guanicoe*) in the Argentinean Patagonia region. *J. Vet. Med. Ser. B.* 48: 713-720.
- Pathak, A.K.; Pelensky, C.; Boag, B. y Cattadori, I.M. (2012) Immuno-epidemiology of chronic bacterial and helminth co-infections: Observations from the field and evidence from the laboratory. *Int. J. Parasitol.* 42: 647-655.
- Patz, J.A.; Graczyk, T.K.; Geller, N. y Vittor, A.Y. (2000) Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *Int. J. Parasitol.* 30: 1395-1405.
- Pedersen, A.B. y Greives, T.J. (2008) The interaction of parasites and resources cause crashes in a wild mouse population. *J. Anim. Ecol.* 77: 370-377.
- Pesenhofer, G.; Palme, R.; Pesenhofer, R.M. y Kofler, J. (2006) Stress reactions during claw trimming in cattle-comparison of a tilt table and a walk-in crush by measuring faecal cortisol metabolites. 7th Middle European Buiatrics Congress, Radenci, Slovenia. 43: 216-219.
- Poppi, D.P.; MacRae, J.C.; Brewer, A. y Coop, R.L. (1986) Nitrogen transactions in the digestive tract of lambs exposed to the intestinal parasite *Trichostrongylus colubriformis*. *Br. J. Nutr.* 55: 593-602.

- Puig, S. y Monge, S. (1983) Determinación de la edad en *Lama guanicoe* (Müller). *Deserta* 7: 246-270.
- Puig, S.; Videla, F.; Cona, M.I. y Monge, S.A. (2001) Use of food availability by guanacos (*Lama guanicoe*) and livestock in Northern Patagonia (Mendoza, Argentina). *J. Arid. Environ.* 47: 291-308.
- Puig, S. y Videla, F. (2007) Distribución, densidades y estado de conservación de los camélidos. *Diversidad Biológica y Cultural de los Altos Andes Centrales de Argentina. Línea de Base de la Reserva de Biósfera San Guillermo*. (Ed.: Martínez Carretero, E) Universidad Nacional de San Juan. San Juan, Argentina. p. 199-223.
- Puig, S. y Videla, F. (1995) Comportamiento y organización social del guanaco. En: *Técnicas para el manejo del guanaco*. (Ed.: Puig, S.) UICN, Gland, Suiza. p. 27-50.
- Puig, S.; Videla, F. y Cona, M.I. (1997) Diet and abundance of the guanaco (*Lama guanicoe* Müller 1776) in four habitats of northern Patagonia, Argentina. *J. Arid. Environ.* 36: 343-357.
- Puig, S.; Ferraris, G.; Superina, M. y Videla, F. (2003) Distribución de densidades de guanacos (*Lama guanicoe*) en el norte de la Reserva La Payunia y su área de influencia (Mendoza, Argentina). *Multequina*: 12: 37-48.
- Quiroga, D.; Lonbardo, O. y Zorrilla, R. (1969) *Sarcocystis tilopodi* N sp. en guanacos (*Lama guanicoe*) de la República Argentina. *Gaceta Vet.* 31: 67-70.
- Racca, A.L.; Eberhardt, A.T.; Moreno, P.G.; Baldi, C., y Beldomenico, P.M. (2013) Differences in natural antibody titres comparing free-ranging guanacos (*Lama guanicoe*) and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Vet. J.* 199 (2): 308-309.
- Raedeke, K.J. (1979) Population dynamics and socioecology of the guanaco (*Lama guanicoe*) of Magallanes, Chile. PhD Thesis. University of Washington. Seattle, USA.
- Reid, R.R.; Prodeus, A.P.; Khan, W.; Hsu, T.; Rosen, F.S. y Carroll, M.C. (1997) Endotoxin shock in antibody-deficient mice: unraveling the role of natural antibody and complement in the clearance of lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 159: 970-975.

- Rickard, L.G. y Bishop, J.K. (1991) Redescription of *Trichuris tenuis* Chandler, 1930, from llamas (*Lama glama*) in Oregon with a key to the species of *Trichuris* present in North American ruminants. *J. Parasitol.* 77 (1): 70-75.
- Rijnberk, A. y Mol, J.A. (1997) Adrenocortical function. En: *Clinical Biochemistry of domestic animals*. (Eds.: Kaneko, J.; Harvey, J. y Bruss, M.). Academic Press. United States of America. p. 553-570.
- Ríos, C.; Zapata, B.; Marín, M.P.; Pacheco, S.; Rivera, K.; González, B.A. y Riveros, J.L.y.Bas, F. (2003) Cambios hematológicos, bioquímica sanguínea y cortisol sérico en crías de guanaco (*Lama guanicoe*) en cautiverio desde el nacimiento al destete. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 18: 47-53.
- Rivier, C.; Rivier, J. y Vale, W. (1986) Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science*. 231(4738): 607-609.
- Roig, F. (1965) Las gramíneas mendocinas del género *Stipa*. III. El coironal. *Bol. Est. Geogr.* 12 (46): 1-73.
- Roig, F. (1998) La vegetación de la Patagonia. En: *Flora Patagónica* 8 (1). Colecc. Cient. (Ed.: Correa, M.N.) INTA. Buenos Aires, Argentina. p. 48-166
- Romero, L.M. y Remage-Healey, L. (2000) Daily and Seasonal Variation in Response to Stress in Captive Starlings (*Sturnus vulgaris*): Corticosterone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 119: 52-59.
- Romero, M.L. (2002) Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *Gen. Comp. Endocrinol.* 128: 1-24.
- Rosadio, R.; Londone, P.; Pérez, D.; Castillo, H.; Véliz, A.; Llanco, L.; Yaya, K. y Maturrano, L. (2010) *Eimeria macusaniensis* associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. *Vet. Parasitol.* 168: 116-120.
- Rose, C.H. y Jacobs, D.E. (1990) Epidemiology of *Nematodirus* species infections of sheep in a subarctic climate: development and persistence of larvae on herbage. *Res.Vet.Sci.* 48: 327-330.

Rose, M.E. (1975) Infections with *Eimeria maxima* and *Eimeria acervulina* in the fowl: effect of previous infection with the heterologous organism on oocyst production. *Parasitology*. 70: 263-271.

Rosner, W. (1990) The functions of corticosteroid-binding globulin and sex hormone-binding globulin: recent advances. *Endocr. Rev.* 11: 80-91.

Rouha-Muelleder, C.; Palme, R. y Waiblinger, S. (2010) Assessment of animal welfare in 80 dairy cow herds in cubicle housing-animal health and other animal-related parameters. *Wien. Tieraerztl. Monschr.* 97: 231-241.

Ruiz-Leal, A. (1955) La presencia de géneros patagónicos dentro de la Flora Mendocina. *Bol. Est. Geogr.* 2: 275-281.

Ruiz-Leal, A. (1972) Los confines boreal y austral de las provincias Patagónica y Central respectivamente. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 13 (Supl.): 89-118.

Saltz, D. y White, G.C. (1991) Urinary cortisol and urea nitrogen responses in irreversibly undernourished mule deer fawns. *J. Wildl. Dis.* 27: 41-46.

Sands, J. y Creel, S. (2004) Social dominance, aggression and faecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*. *Anim. Behav.* 67: 387-396.

Sapolsky, R.M. (1982) The endocrine stress-response and social status in the wild baboon. *Horm. Behav.* 16: 279-292.

Sapolsky, R.M. (1983) Endocrine aspects of social instability in the olive baboon (*Papio anubis*). *Am. J. Primatol.* 5: 365-379.

Sapolsky, R.M.; Krey, L.C. y McEwen, B.S. (1984) Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81: 6174-6177.

Sapolsky, R.M.; Romero, L.M. y Munck, A.U. (2000) How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev.* 21: 55-89.

- Sarno, R.J. y Franklin, W.L. (1999) Maternal expenditure in the polygynous and monomorphic guanaco: suckling behavior, reproductive effort yearly variation, and influence on juvenile survival. *Behav. Ecol.* 10: 41-47.
- Sarno, R.J. y Franklin, W.L. (1999) Population density and annual variation in birth mass of guanacos in southern Chile. *J. Mammal.* 80: 1158-1162.
- Sarno, R.J.; Bank, M.S.; Stern, H.S. y Franklin, W.L. (2003) Forced dispersal of juvenile guanacos (*Lama guanicoe*): causes, variation, and fates of individuals dispersing at different times. *Behav.Ecol.Sociobiol.* 54: 22-29.
- Schmid-Hempel, P. y Ebert, D. (2003) On the evolutionary ecology of specific immune defence. *Trends. Ecol. Evol.* 18: 27-32.
- Schrey, C.F.; Abbott, T.A.; Ann Stewart, V. y Marquardt, W.C. (1991) Coccidia of the llama, *Lama glama*, in Colorado and Wyoming. *Vet. Parasitol.* 40: 21-28.
- Schroeder, N. (2013) Interacción entre el guanaco (*Lama guanicoe*) y herbívoros domésticos en el paisaje de La Payunia (sur de Mendoza, Argentina). Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina. 156 p.
- Seto, R. y Henderson, W.G. (1968) Natural and immune hemagglutinin forming capacity of immature chickens. *J. Exp. Zool.* 169: 501-511.
- Shaw, D.J. y Dobson, A.P. (1995) Patterns of macroparasite abundance and aggregation in wildlife populations: a quantitative review. *Parasitology* 111: S111-S127.
- Shaw, D.J.; Grenfell, B.T. y Dobson, A.P. (1998) Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations. *Parasitology* 117: 597-610.
- Shehu, K. y Nowell, F. (1998) Cross-reactions between *Eimeria falciformis* and *Eimeria pragensis* in mice induced by trickle infections. *Parasitology* 117: 457-465.

Sheriff, M.J.; Bosson, C.O.; Krebs, C.J. y Boonstra, R. (2009) A non-invasive technique for analyzing fecal cortisol metabolites in snowshoe hares (*Lepus americanus*). *J. Comp. Physiol. B.* 179: 305-313.

Sheriff, M.J.; Dantzer, B.; Delehanty, B.; Palme, R. y Boonstra, R. (2011) Measuring stress in wildlife: techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia* 166: 869-887.

Sinclair, A.R.E. (1989) Population regulation in animals. En: *Symposium of the British Ecological Society*. London, Great Britain.

Smith, K.F.; Acevedo-Whitehouse, K. y Pedersen, A.B. (2009) The role of infectious diseases in biological conservation. *Anim. Conserv.* 12: 1-12.

Snaith, T.V.; Chapman, C.A.; Rothman, J.M., y Wasserman, M.D. (2008) Bigger groups have fewer parasites and similar cortisol levels: a multi-group analysis in red colobus monkeys. *Am. J. Primatol.* 70: 1072-1080.

Sol, D.; Jovani, R., y Torres, J. (2003) Parasite mediated mortality and host immune response explain age-related differences in blood parasitism in birds. *Oecologia* 135: 542-547.

Sosa, R.A. y Sarasola, J.H. (2005) Habitat use and social structure of an isolated population of guanacos (*Lama guanicoe*) in the Monte Desert, Argentina. *Eur. J. Wildl. Res.* 51: 207-209.

Soulsby, E.J.L. (1982) *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. (Ed.:Soulsby, E.) Editorial Interamericana. México D.F., México. 823 p.

Stanley, H.F.; Kadwell, M. y Wheeler, J.C. (1994) Molecular evolution of the family Camelidae: a mitochondrial DNA study. *Proc. R. Soc. Biol. Sci. Ser. B.* 256: 1-6.

Stoewe, M.; Rettenbacher, S.; Busso, J.M.; Grasse, A.; Mahr, K.; Vogl, W.; Winkler, H. y Möstl, E. (2013) Patterns of excreted glucocorticoid metabolites change during development-analytical and physiological implications. *Wien. Tierärztl. Monshr.* 100: 271-282.

- Stromberg, B.E. (1997) Environmental factors influencing transmission. *Vet.Parasitol.* 72: 247-264.
- Stroud, R.K. (1978) Parasites and associated pathology observed in pinnipeds stranded along the Oregon coast. *J. Wildl. Dis.* 14: 292-298.
- Stull, C.L. y Rodiek, A.V. (2000) Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J. Anim. Sci.* 78: 1458-1466.
- Superina, M. y Jahn, G.A. (2009) Seasonal reproduction in male pichis *Zaedyus pichiy* (*Xenarthra: Dasypodidae*) estimated by fecal androgen metabolites and testicular histology. *Anim.Reprod.Sci.* 112: 283-292.
- Sykes, A.R. (1978) The effect of subclinical parasitism in sheep. *Vet. Rec.* 102: 32-34.
- Symons, L.E. y Jones, W.O. (1975) Skeletal muscle, liver and wool protein synthesis by sheep infected by the nematode *Trichostrongylus colubriformis*. *Crop Pasture Sci.* 26: 1063-1072.
- Tache, Y.; Mönnikes, H.; Bonaz, B. y Rivier, J. (1993) Role of CRF in Stress-Related Alterations of Gastric and Colonic Motor Function. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 697: 233-243.
- Tait, A.S.; Butts, C.L. y Sternberg, E.M. (2008) The role of glucocorticoids and progestins in inflammatory, autoimmune, and infectious disease. *J.Leukoc.Biol.* 84: 924-931.
- Tait, S.A.; Kirwan, J.A.; Fair, C.J.; Coles, G.C. y Stafford, K.A. (2002) Parasites and their control in South American camelids in the United Kingdom. *Vet.Rec.* 150: 637-638.
- Taraborelli, P.; Ovejero, R.; Schroeder, N.; Moreno, P.; Gregorio, P. y Carmanchahi, P. (2011) Behavioural and physiological stress responses to handling in wild guanacos. *J. Nat. Conserv.* 19: 356-362.
- Taylor, W. (1970) The excretion of steroid hormone metabolites in bile and feces. *Vitam. Horm.* 29: 201-285.

- Teixeira, C.P.; De Azevedo, C.S.; Mendl, M.; Cipreste, C.F. y Young, R.J. (2007) Revisiting translocation and reintroduction programmes: the importance of considering stress. *Anim. Behav.* 73: 1-13.
- Tompkins, D.M. y Begon, M. (1999) Parasites can regulate wildlife populations. *Parasitol. Today.* 15: 311-313.
- Torres, H. (1986) Distribución y conservación del guanaco. Informe especial N°2. IUCN, Cambridge.
- Touma, C. y Palme, R. (2005) Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1046: 54-74.
- Ueno, H. y Gutierrez, V. (1988) Manual para diagnóstico de parásitos en rumiantes. Int. Coop. Ag. Tokyo, Japón. 176 pp.
- Vallenas, A.; Cummings, J. y Munnell, J. (1971) A gross study of the compartmentalized stomach of two new-world camelids, the llama and guanaco. *J. Morphol.* 134: 399-423.
- Van Houtert, M.F.J. y Sykes, A.R. (1996) Implications of nutrition for the ability of ruminants to withstand gastrointestinal nematode infections. *Int. J. Parasitol.* 26: 1151-1167.
- Van Wyk, J.A. y Mayhew, E. (2013) Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 80 (1): 14 p.
- Véliz, C. y Hoces, D. (2007) Distribución potencial del guanaco y de la vicuña en el Perú. En: XII Reunion del Seminario Permanente de investigacion Agraria. SEPIA. Tarapoto, Perú.
- Vilá, B. (2012) Camélidos Sudamericanos. Eudeba. Buenos Aires, Argentina.
- Villalba, L. (2004) Monitoreo de la población de *Lama guanicoe voglii*. Reporte Técnico. Desde el Chaco Foundation. Loma Plata, Paraguay.

- von Szokolay, P. y Reh binder, C. (1983) Deworming of corralled fallow deer (*Dama dama*) using mebendazole. *Nord. Veterinaermed.* 36: 394-403. 176 p.
- Wada, H. (2008) Glucocorticoids: mediators of vertebrate ontogenetic transitions. *Gen. Comp. Endocrinol.* 156: 441-453.
- Wallace, D.S.; Bairden, K.; Duncan, J.L.; Eckersall, P.D.; Fishwick, G.; Gill, M.; Holmes, P.H.; McKellar, Q.A.; Murray, M. y Parkins, J.J. (1998) The influence of dietary supplementation with urea on resilience and resistance to infection with *Haemonchus contortus*. *Parasitology.* 116: 67-72.
- Wasser, S.K. y Hunt, K.E. (2005) Noninvasive measures of reproductive function and disturbance in the barred owl, great horned owl, and northern spotted owl. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1046: 109-137.
- Wheeler, J.C. (1995) Evolution and present situation of the South American Camelidae. *Biol. J. Linn. Soc.* 54: 271-295.
- Wheeler, J.C.; Chikhi, L. y Bruford, M.W. (2006) Genetic analysis of the origins of domestic South American camelids. En: *Archaeology and Animal Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms.* p. 329-341.
- Wingfield, J.C. y Farner, D.S. (1993) Endocrinology of reproduction in wild species. *Avian. Biol.* 9(163): 327.
- Wobeser, G. (2007) *Disease in wild animals: investigation and management.* (Ed.: Czeschlik, D.) Springer-Verlag. Heidelberg, Alemania. 393 p.
- Wobeser, G. (2013) *Essentials of disease in wild animals.*(Ed.: Wobeser, G.) Wiley-Blackwell. Weinheim, Alemania. 243 p.
- Wofford, H.; Holechek, J.L.; Galyean, M.L.; Wallace, J.D. y Cardenas, M. (1985) Evaluation of fecal indices to predict cattle diet quality. *J. Range. Manage.* 450-454.
- Young, J.K. y Franklin, W.L. (2004) Territorial fidelity of male guanacos in the Patagonia of southern Chile. *J. Mammal.* 85: 72-78.

Yuill, T.M. (1987) Diseases as components of mammalian ecosystems: mayhem and subtlety. *Can. J. Zool.* 65: 1061-1066.

Zahorec, R. (2001) Ratio of neutrophil to lymphocyte counts-rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill. *Bratisl. lek. lis.* 102: 5-14.

Zapata, B.; Fuentes, V.; Bonacic, C.; González, B.; Villouta, G., y Bas, F. (2003) Haematological and clinical biochemistry findings in captive juvenile guanacos (*Lama guanicoe* Müller 1776) in central Chile. *Small. Ruminant. Res.* 48: 15-21.

Zapata, B.; Gimpel, J.; Bonacic, C.; González, B.A.; Riveros, J.L.; Ramírez, A.M.; Bas, F. y Macdonald, D.W. (2004) The effect of transport on cortisol, glucose, heart rate, leukocytes and body weight in captive-reared guanacos (*Lama guanicoe*). *Anim.Welfare* 13: 439-444.

Ziegler, T.E.; Scheffler, G.; Wittwer, D.J.; Schultz-Darken, N.; Snowdon, C.T. y Abbott, D.H. (1996) Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. *Biol.Reprod.* 54: 91-99.