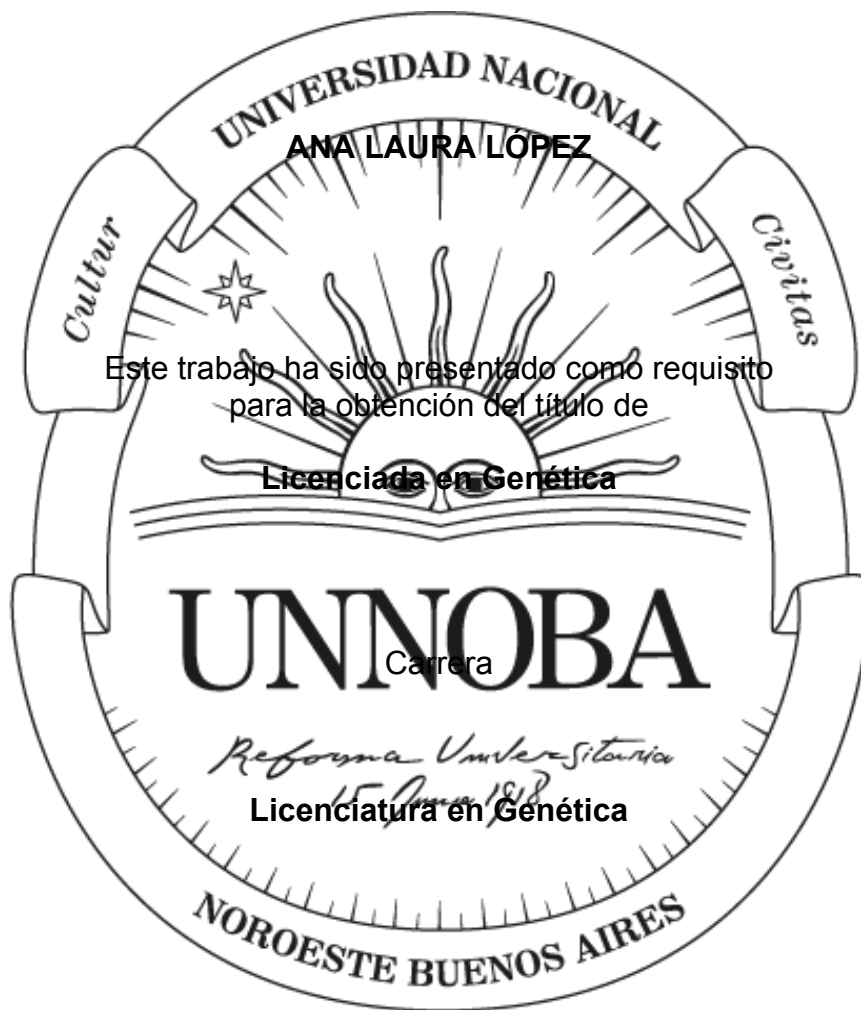


**VARIABILIDAD GENÉTICA POBLACIONAL Y PATRONES FILOGEOGRÁFICOS EN LAS POBLACIONES DE CARPINCHO (*Hydrochoerus hydrochaeris*) DE LA REGIÓN CENTRAL DE ARGENTINA**

Trabajo Final de Grado  
de la alumna



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino, 13 de Octubre de 2023

**VARIABILIDAD GENÉTICA POBLACIONAL Y PATRONES FILOGEOGRÁFICOS EN  
LAS POBLACIONES DE CARPINCHO (*HYDROCHOERUS HYDROCHAERIS*) DE LA  
REGIÓN CENTRAL DE ARGENTINA**

Trabajo Final de Grado

de la alumna

**ANA LAURA LÓPEZ**

Aprobada por el Tribunal Evaluador

**Evaluador/a**  
**Carlos Figueroa**

**Evaluador/a**  
**Mariana Cosse**

**Evaluador/a**  
**Maximiliano Nardelli**

**Gabriela P. Fernández**  
**Directora**

**M. Soledad Byrne**  
**Directora**

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,  
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino, 13 de Octubre de 2023

## **Rapsodia entrerriana**

*Claro, altivo y vertical  
alto de nube y de cielo,  
con esa actitud de vuelo  
del pájaro y del puñal,  
libre por toda señal  
y entrerriano por el canto,  
en mi guitarra levanto  
los rumores provincianos  
porque me tiembla en las manos  
la tierra que quiero tanto.  
Para el amor, Entre Ríos  
y Entre Ríos en el canto.  
Entre Ríos en el llanto  
y en la alegría Entre Ríos.  
Únicamente Entre Ríos  
para nacer y vivir  
en Entre Ríos sentir  
el pulso fiel del hermano  
y con orgullo entrerriano  
en Entre Ríos morir.*

Jorge Enrique Marti

# AGRADECIMIENTOS

A la universidad pública, que tanto me ha enseñado en lo académico, ético-profesional y en valores para la vida.

A la Dra. Gabriela Fernández, por ser la gran docente e investigadora que sos, pero principalmente, por tu lado humano, sensible y bondadoso que te caracteriza. Sin duda fuiste una de mis mejores profesoras y seguirás siendo para mí una fuente de inspiración. Gracias por permitirme ser parte de tu equipo de trabajo, por la confianza y por el tiempo que has dedicado a formarme como profesional y como persona.

A la Dra. Soledad Byrne, por ser una excelente referente en todo momento. El tiempo que dedicaste a este proyecto, las videollamadas, las sugerencias, y la atención a cada detalle demuestran la gran profesional que sos y la pasión que tenés por tu trabajo. Fue un honor poder ser parte de esta red de estudio de carpinchos, y sé que me llevo muchos más aprendizajes que los que se puedan volcar en esta tesis.

A mis grandes héroes en este lío: Lic. Matias MacAllister y Lic. Emiliano Pinardi. Esta tesis no hubiera sido posible sin su ayuda en cada paso; desde la enseñanza en cada técnica, el procesado de los datos y la escritura. Hicieron que mi paso por el CeBio fuera una experiencia maravillosa e inolvidable. Gracias por la paciencia, las explicaciones, las charlas de horas y los consejos para la vida dentro y fuera del laboratorio. Gracias por tratarme siempre como un par, y por abrirme las puertas del laboratorio y de este hermoso mundo que es la genética de poblaciones. Gracias Matimac, gracias Melli.

Al Dr. Mariano Merino, por las charlas de política, gastronomía y arte. Por las recomendaciones literarias y una colección maravillosa de discos de vinilo. Gracias por pensar más allá, y empezar a formar la base de muestras de carpinchos, con la cual hice gran parte de este trabajo.

A Marcos Filippini, por haberme aguantado desde las primeras extracciones hasta las últimas PCR. Fue un placer compartir este tiempo de aprendizaje con vos. Por los mates, las charlas y la felicidad compartida cuando veíamos bandas en el gel.

A la Dra. Diana Acosta, Lic. Virginia Zelada y Dr. Carlos Figueroa, por su ayuda y por la compañía de cada día de trabajo.

Al Lic. Matías González-Barbosa y a la Dra. Mariana Cosse, por su generosidad en todo momento, desde el intercambio de muestras, hasta las extensas conversaciones vía mail, cargadas de explicaciones y consejos para que este trabajo pueda realizarse. Gracias por la predisposición, la confianza y el respeto que tuvieron con este grupo de trabajo. Fue un placer trabajar en conjunto por y para esta red de colaboradores de carpis.

A todo el Centro de Bioinvestigaciones, por ser más que un lugar de trabajo. Gracias por integrarme, guiarme y ser una gran red de contención. Amar lo que haces y hacer lo que amas debe de ser de las cosas que más nos gratifican y nos hacen sentir agradecidos. Fui muy feliz yendo al laboratorio; aún en los días en los que algún experimento no salió como esperábamos, siempre había alguien dispuesto a ayudar.

A Susana Pistorale, Susi, por ser la excelente docente y coordinadora de carrera que fuiste. Gracias por estar presente desde los primeros años y siempre acompañando

nuestras luchas y proyectos. Y a la Dra. Manuela Santalla, por ser mi gran referente como investigadora, docente y mujer en la ciencia. Gracias por confiar en mí desde el primer momento en que nos conocimos, por invitarme a ser parte del maravilloso mundo de la extensión universitaria y darme la posibilidad de ser ayudante de alumna. Ojalá algún día podamos trabajar juntas nuevamente.

Agradezco a mis pilares fundamentales: mi familia y mis amigos; sin ellos, este camino no hubiera sido nada sencillo. Gracias por no dejarme caer, por motivarme a seguir adelante y cumplir todos mis objetivos. Este trabajo es de ustedes también.

A mi mamá, Mónica, por enseñarme a nunca bajar los brazos. Por bancarme desde el día uno que dije que quería venirme a 500km de casa a estudiar algo tan abstracto como la genética. Gracias ma por darme la posibilidad de estudiar, por el apoyo diario, por ser el pilar fundamental de mi vida, enseñarme buenos valores y a cuestionarme todo lo establecido. Sos mi refugio, el lugar donde siempre quiero estar, y sé que no hay nada mejor que casa.

A mi hermana, “La Euge”, por ser mi motor y mi ejemplo a seguir. Gracias por las horas que me bancaste estudiando, llorando por videollamada porque extrañaba, haciéndome el aguante hasta que pase el Río Uruguay a Rosario, por las risas hasta que nos doliera la panza, y por compartir las mismas luchas. Gracias por alentarme a seguir y por incentivarme a ir un poquito más allá. Soy lo que soy por vos.

A mi papá, Mario, por apoyarme en todos estos años. Por los asados cada vez que volvía a Entre Ríos, los domingos de turismo de carretera y las visitas a Pergamino que me alegraban la semana. Gracias por bancarme estos años de estudio viejo, siempre motivándome a seguir adelante y poner todas mis energías y esfuerzos para cumplir mis sueños. Llegamos.

Carlitos, mi viejo del corazón, el que siempre está. Gracias por enseñarme afuera de lo académico, y por todos los valores que me inculcaste, por enseñarme que familia no solo es con quién se comparte sangre, si no que es a quien uno elige para pasar las cosas más bonitas y las más duras de la vida. Gracias por las mañás y las idas y vueltas a San José para que pueda tomar el colectivo (la valija roja y yo te lo agradecemos mucho).

A mi hermano Valentín, ser tu hermana es de las cosas más lindas que me pasó. Ana, Cata, Vicky y Álvaro, los Scopez siempre presentes en cada momento de estos 6 años.

A Claudia, por ser una amiga de fierro, una madre más. Por lo mates, los budines, los dulces, los mensajes y las tardes juntas.

Párrafo aparte para mis amigos y compañeros de cursada. Gracias por el aguante de todos estos años, por hacer más ameno las largas jornadas en la ECANA, los viajes en el 13 de noviembre y los días de estrés pre-parciales; a cada uno de ustedes, gracias, gracias, gracias.

A Carola, primer facuamiga, futura colega y hermana de otra madre. Gracias por bancarme todos estos años, por abrirme las puertas de tu casa, por todas las horas de estudio juntas, por bajarme a tierra, por las risas y los llantos. Gracias por hacerme una mejor persona, por enseñarme que es necesario estar en el aquí y en el ahora. Por las

comidas para festejar, por las juntadas para no extrañar, por volverte parte de mi familia. Voy a estar siempre agradecida con vos, y espero de corazón que la vida te devuelva todo lo maravilloso que das.

A mis queridísimos AUG, Colo y Niki. Amigos, colegas y compañeros de tutorías. Gracias por la paciencia, por los retos, por las horas de videollamada haciendo trabajos en drive. Gracias por enseñarme a confiar en mí.

A mis padres pergaminenses, Ni y Agus. Gracias totales por el aguante desde siempre, por estar, acompañarme y ayudarme en todos estos años. Gracias por abrirme las puertas de su casa cuando estaba pasando por malos momentos, y por alegrarse por cada buena noticia como si fuera propia. Gracias por dejarme ser parte de sus vidas, por todo lo que hemos vivido juntos, y por muchos años más de amistad.

A Flor, por esta amistad hermosa que construimos estando en México que se mantiene intacta. Gracias por ser la tiritita, y por enseñarme que a pesar de que esta no es la dulce vida, juntas, la hacemos más bonita.

A Sofi, por ser la responsable de que haya elegido esta carrera. Gracias por ser compañera de lucha, la ciencia será soberana y feminista o no será.

A Oriana, Aldana, Carolina, Daiana, Guada, Jacqui y Maca, gracias por estar.

A mis compañeros de impro, gracias por permitirme jugar a ser niña otra vez y enseñarme que no hay nada más lindo que improvisar esta vida juntos.

Por último, pero no menos importante, a mi ángel de la guardia: Hortensia. En esta y en todas las vidas, donde sea que estés, llegamos abuela.

# RESUMEN

El carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*) es un roedor herbívoro semi-acuático cuya distribución se encuentra asociada a los ambientes acuáticos de la mayor parte de Sudamérica. En Argentina, abarca desde las yungas de Salta y Jujuy, las zonas ribereñas y de humedales de Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Buenos Aires, con presencia en Córdoba y La Pampa. A pesar de una relativa expansión y recolonización hacia el oeste y el sur de su área de distribución, en la provincia de Buenos Aires casi no hay datos sobre tendencias poblacionales. A nivel internacional, la especie ha sido categorizada como Preocupación Menor (LC, por sus siglas en inglés *Least Concern*) por la IUCN (2016) y a nivel nacional ha sido caracterizada como Preocupación Menor (LC) por la Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM) en 2019, debido a su amplia distribución, a que sus tamaños poblacionales se consideran relativamente estables y a la reciente ampliación del rango de distribución. Sin embargo, los grados de amenaza a nivel regional son variables. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue llevar adelante una primera caracterización genética de las poblaciones de carpinchos al sur de su distribución, principalmente en las provincias de Buenos Aires (BA) y de Entre Ríos (ER), y compararla con la de otras poblaciones previamente estudiadas para la especie en la región Chaco-pampeana. Para ello se amplificó por PCR, un fragmento de 545 pb de la región hipervariable 1 (HVRI) de la Región Control mitocondrial a partir de muestras de tejido colectadas en la provincia de BA (n=21) y de ER (n=16) mediante muestreo no invasivo.

Se generaron dos sets de datos a partir de las secuencias obtenidas; uno a escala local que constó de 28 secuencias de 487 pb provenientes de Buenos Aires y Entre Ríos; y un segundo set de datos a escala regional, al que se sumaron secuencias de trabajos anteriores de la región chaco-pampeana, que consta de 129 secuencias de 226 pb. A escala local se encontraron 9 haplotipos, uno de ellos no reportado anteriormente. El hallazgo de un haplotipo nuevo y los índices promedio de diversidad nucleotídica ( $Pi=0,009$ ) y haplotípica ( $Hd=0,735$ ) indicaron una moderada variabilidad genética en la región de estudio. La presencia de haplotipos compartidos entre los individuos localizados en la provincia de Buenos Aires y Entre Ríos, apoya la hipótesis de una alta conectividad entre estas poblaciones, planteada en el trabajo. Por otro lado, la ausencia de estructuración genética regional, clusters génicos y haplotipos compartidos entre poblaciones, indicaron una baja divergencia poblacional.

A partir de los resultados obtenidos, se concluye que la región control mitocondrial tiene una alta eficacia como marcador molecular, para enriquecer la base de conocimiento actual sobre la variabilidad genética de la especie. Por otra parte, las conexiones entre las poblaciones de Paraguay y Argentina sugieren que el Río Paraná actúa como corredor biológico, mientras que las relaciones entre Argentina y Uruguay indican lo mismo para el Río Uruguay.

Debido a la existencia de la extensa red hidrográfica presente en la región, que facilita el flujo génico entre las poblaciones, se propone realizar nuevos estudios que incluyan más individuos por población estudiada y otros sitios polimórficos para validar de forma más robusta la hipótesis de ausencia de estructuración.

# CONTENIDOS

<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>9</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>12</b>
2.1 Historia evolutiva de los caviomorfos.....	13
2.2 El carpincho.....	14
2.3 Estado de conservación y usos históricos de la especie.....	16
2.4 Filogeografía y ADN mitocondrial.....	17
<b>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
<b>3. Hipótesis.....</b>	<b>20</b>
<b>4. Objetivos.....</b>	<b>20</b>
4.1 Objetivo general.....	20
4.2 Objetivos específicos.....	20
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
5.1 Área de estudio.....	23
5.2 Colecta de muestras.....	24
5.3. Trabajo de laboratorio.....	26
5.3.1 Extracción del ADN.....	26
5.3.2 Amplificación del ADN.....	26
5.3.3 Secuenciación de los fragmentos amplificados.....	27
5.4 Análisis de los datos.....	27
5.4.1 Escala local.....	27
5.4.2 Escala regional.....	27
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
6.1 Extracción y amplificación.....	32
6.2 Estimaciones de variabilidad genética.....	32
6.2.1 Escala local.....	32
6.2.2 Escala regional.....	33
6.3 Análisis filogenético.....	36
6.4 Relaciones haplotípicas.....	37
6.4.1 Escala local.....	37
6.4.2 Escala regional.....	38
6.5 Identificación de clusters genéticos.....	40
6.6 Estructuración poblacional a nivel local.....	41
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>42</b>
7.1 Variabilidad genética.....	43
7.1.1 Escala local.....	43
7.1.2 Escala regional.....	43
7.2 Análisis filogeográficos.....	43
7.2.1 Escala local.....	44
7.2.1 Escala regional.....	44
7.3 Implicancias para la conservación.....	45



<b>8. CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES.....</b>	<b>47</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>49</b>
<b>10. ANEXOS.....</b>	<b>57</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

ADNmt: ADN mitocondrial

AGAD: Arroyo Grande y Arroyo Dulce

Arg: Argentina

Ari: Arizona (Paraguay)

Ave: Averías (Uruguay)

Aya: Ayacucho

BD: Bajo Delta

BN: Bahía Negra (Paraguay)

BA: Buenos Aires

Camba: Cambaceres

CLS: Colonia San Miguel

Co: Corrientes

CS: Capitán Sarmiento

CSM: Colonia La Suiza

DP: Delta del Paraná

Eñe: Eñe (Paraguay)

ELP: Estancia El Potrero

EP: El Palmar

ER: Entre Ríos

ESS: Estancia "San Simón"

Est: estancia

Far: Farrapos (Uruguay)

Fda: Florida (Uruguay)

Flo: Flores (Uruguay)

Ger: Germania

Hap: haplotipo

HVR1: región hipervariable 1

IB: .Inferencia Bayesiana

Ibe: Iberá

Jer: Jerová (Paraguay)

Kg: kilogramos

Lap: Lapacho (Paraguay)

Lor: Loreto (Paraguay)

LP: Loma Plata (Paraguay)

LR: Laguna Rey (Paraguay)

LRoc: Laguna Rocha (Uruguay)

Mdo: Maldonado (Uruguay)

Mar: Maroma (Paraguay)

Mari: Mariscal (Paraguay)

MV: Máxima Verosimilitud

Mm: milímetros

ng: nanogramos

NJ: *Neighbor joining*

Oli: Olimpo (Paraguay)

Par: Paraguay

Pb: pares de bases

PC: Paso Centurión (Uruguay)

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

Pel: Pellegrini

PI: Punta Indio

PN: Parque Nacional

Pot: Potrerillos (Uruguay)

Qgy: Queguay (Uruguay)

RA: Río Arrecifes

RC: región control mitocondrial

RF: Rincón de Franquia (Uruguay)

RG: Río Gualeguaychú

RL: Río Luján

Roc: Rocha (Uruguay)

RS: Río Salado

RQS: Río Quequén Salado

RU: Río Uruguay

Sau: Saucés (Paraguay)

SF: Santa Fe

SL: Santa Lucía (Uruguay)

Salto: Salto (Uruguay)

Tol: Toledo (Paraguay)

VE: Villa Elisa

VS: Villa Serrana (Uruguay)

μl: microlitros

μM: micromolar

UMs: unidades de manejo

Uy: Uruguay

# **INTRODUCCIÓN**

## 2.1 Historia evolutiva de los caviomorfos

Rodentia constituye el orden más grande de mamíferos y sus especies se encuentran distribuidas en todos los continentes con excepción de la Antártida (Volobouev *et al.*, 2006). Los primeros roedores de América del Sur (Caviomorpha) aparecen en el registro fósil en la transición Eoceno/Oligoceno, período caracterizado por la transformación y cambio en términos climáticos y ambientales. Durante este período de tiempo, el grupo experimentó una radiación adaptativa que dió como resultado que estos "herbívoros hipsodontos" (herbívoros con muelas de corona alta), ampliaran su distribución hacia nichos previamente ocupados por ungulados. Hoy en día, los roedores caviomorfos se encuentran en toda América del Sur y ocupan una diversidad de hábitats que incluyen desiertos, praderas, bosques tropicales, los Andes, arbustos costeros, afloramientos rocosos, etc, por lo que se los considera un componente integral y diverso de la biota sudamericana. Muchas especies son importantes para varias regiones del continente por razones tanto económicas como de conservación (Honeycutt, 2013).

Según Carleton y Musser (2005), la clasificación taxonómica más reciente propone cinco subórdenes para el orden Rodentia: Anomaluomorpha, Castorimorpha, Hystricomorpha, Myomorpha y Sciuromorpha. Dentro del clado de roedores histricomorfos encontramos a los caviomorfos, que son especies endémicas de América y las islas del Caribe. Este clado está compuesto por cuatro superfamilias, cuatro familias extintas y diez vivientes, que comprenden al menos 244 especies que se distribuyen principalmente en América del Sur (Upham y Patterson, 2015; D'Elía *et al.*, 2019; Verde Arregoitia *et al.*, 2020). Las cuatro superfamilias son: Cavoioidea, Chinchilloidea, Erethizontoidea y Octodontoidea (Ojeda *et al.*, 2016).

En líneas generales, se identifican dos áreas principales con una alta concentración de especies en la superfamilia Cavoioidea, una de las cuales comprende el bioma amazónico, situado en la región centro-occidental de la zona tropical sudamericana; mientras que la otra se encuentra en el Bosque Atlántico, a lo largo de la frontera oriental del sur de Brasil (Upham y Patterson 2012; Ojeda *et al.* 2013, 2015). En particular, la superfamilia cavoioidea comprende a la familia Caviidae, la que a su vez se divide en 3 subfamilias: Caviinae (cavies), Dolichotinae (maras) e Hydrochoerinae (carpichos).

El carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*), también llamado capibara, es un roedor herbívoro semi-acuático perteneciente al orden Rodentia, pavorden Caviomorpha, dentro de la familia Hydrochoeridae (Vucetich *et al.*, 2013). En la actualidad, solo existen dos especies dentro del género *Hydrochoerus*, el capibara menor (*Hydrochoerus isthmius* (Goldman, 1912)) cuya distribución se limita a algunas zonas de Panamá, Colombia y Venezuela; y el carpincho, capibara o chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris* (Linnaeus, 1766)) con una amplia distribución en Sudamérica (Moreira *et al.*, 2013). Sin embargo, a pesar de que aún no se encuentra completamente dilucidada la historia evolutiva de los carpinchos, se ha planteado la hipótesis de que *H. hydrochaeris* es la única especie existente y que *H. isthmius* representa una subespecie, con posible origen en el Amazonas occidental (Byrne *et al.*, 2022).

## 2.2 El carpincho

El carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*), con un peso promedio de 50 kg, se destaca como el roedor más grande conocido en la actualidad. Este animal presenta una constitución robusta, con unas dimensiones aproximadas de 1,2 m de longitud y 0,6 m de altura (Mones y Ojasti, 1986; Moreira *et al.*, 2013b). Es un roedor semiacuático que habita

en las cercanías pero no en el interior de esteros y lagunas, de los que no se aleja más allá de 500 metros (Quintana *et al.*, 2005; Campos-Krauer y Wisely, 2010), presenta adaptaciones morfológicas propias de un estilo de vida semiacuático como la ubicación dorsal de los ojos, las orejas y las narinas; así como también se pueden mencionar sus extremidades cortas (donde las posteriores son de mayor tamaño en comparación con las anteriores) y sus patas palmeadas (Ojasti, 1973; Mones y Ojasti, 1986; Moreira *et al.*, 2013b).

Estos animales forman grupos sociales, compuestos por un núcleo central de hembras, un macho dominante y otros subordinados, en los que el primero, logra la mayoría de los apareamientos con las hembras de la manada, razón por la que los individuos del grupo resultan ser hermanos completos o medios hermanos, debido a que comparten el mismo padre y/o madre (FAO, 2007; Herrera, 1992).

Existen pocos estudios ecológicos que describan los patrones de dispersión de la especie (Herrera, 1992, 2013; Salas, 1999; Congdon, 2007; Herrera *et al.*, 2011). Algunos autores sugieren que las variaciones observables en dichos patrones podrían estar relacionados con la distribución espacial de los recursos hídricos, un componente clave que define sus territorios (Herrera *et al.*, 2011). Por otro lado, Herrera (2013) señaló que es la densidad poblacional la que determina el modo en el que los animales dispersan: cuando ésta es baja, la dispersión se da en grupos conformados por carpinchos de ambos sexos, mientras que cuando es alta, los machos son los que migran y las hembras son filopátricas.

Su distribución geográfica es amplia y está asociada a los ambientes acuáticos de la mayor parte de América del Sur (Herrera y Macdonald, 1989; Quintana, 1999). El agua resulta un recurso vital para estos animales, dado que no sólo la utilizan para beber sino también para regular su temperatura corporal, escapar de sus predadores, aparearse y obtener su alimento, el cual se encuentra cerca o dentro de los cuerpos de agua. El carpincho se alimenta principalmente de gramíneas y ciperáceas de baja altura, con un alto contenido proteico; sin embargo, si la calidad o cantidad de alimento disminuye, su dieta se vuelve más generalista (Campos-Krauer y Wisely, 2010).

Las poblaciones de carpincho permanecen en hábitats húmedos del neotrópico sudamericano hasta el sur de la provincia de Buenos Aires, correspondientes a las cuencas hidrográficas de los principales ríos sudamericanos, como son el Orinoco, Amazonas, Paraná, Uruguay y Río de la Plata. Su distribución abarca desde el este de Colombia, Venezuela y las regiones amazónicas de Ecuador, Perú, Bolivia y Brasil. También se encuentra en Paraguay, y hacia el sur, en Uruguay y Argentina (González Jiménez, 1995).

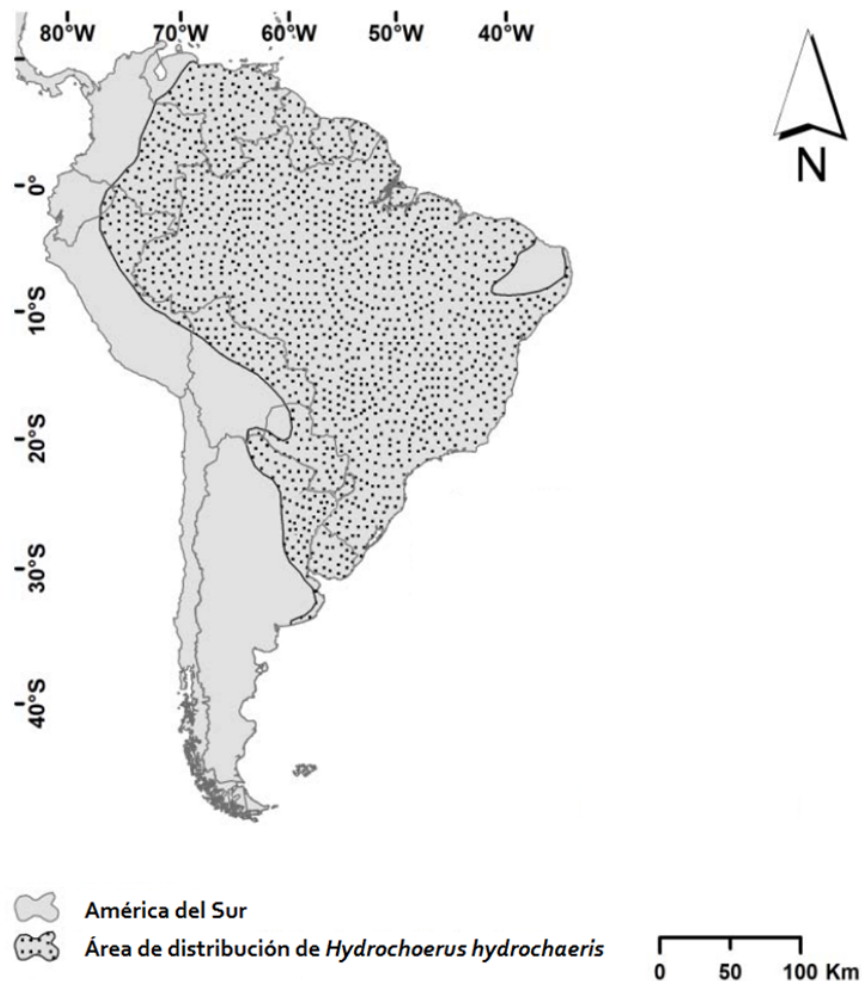


Figura 2.1. Área de distribución de *Hydrochoerus hydrochaeris* en América del Sur. Figura extraída y adaptada de Schivo *et al.* (2015).

Su distribución actual en la Argentina abarca desde las yungas de Salta y Jujuy, las zonas ribereñas y de humedales de Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Buenos Aires, con presencia en Córdoba y La Pampa; siendo su distribución potencial estimada en 450.000 km<sup>2</sup>, 40% de la cual es considerada un hábitat óptimo o subóptimo para el carpincho (Adámoli *et al.*, 1988). A pesar de una relativa expansión y recolonización hacia el oeste y el sur de su área de distribución, en la provincia de Buenos Aires casi no hay datos sobre tendencias poblacionales. En sitios protegidos (reservas o estancias) o con difícil acceso a cazadores y hábitats adecuados, las densidades poblacionales suelen ser altas como por ejemplo en el Parque Nacional El Palmar (Entre Ríos) donde se observaron incrementos de la población probablemente debido a los esfuerzos realizados para erradicar al jabalí (Bolkovic *et al.*, 2019). Son varios y diversos los factores que inciden de forma negativa sobre la dinámica de las poblaciones naturales, tales como la degradación y pérdida de hábitat, sequías/incendios alternados con inundaciones, presencia de especies exóticas, atropellamientos y un reciente incremento en la cacería como fuente proteica para poblaciones humanas empobrecidas. La principal amenaza descrita para esta especie ha sido la caza comercial para la obtención de su cuero, aunque no se cuenta en la actualidad con monitoreos poblacionales recientes que permitan afirmar si hubo una recuperación de las poblaciones



sobreexplotadas (Quintana y Bolcovick, 2013). Sin embargo, en el caso particular de Brasil, la deforestación no ha representado una amenaza significativa para esta especie, sino que, se han registrado evidencias científicas que indican que la conversión de bosques en pasturas ha impulsado su expansión; lo que ha convertido al carpincho en una especie plaga debido principalmente a su capacidad de adaptación a agroecosistemas y a la disminución de sus depredadores naturales (Moreira y Macdonald, 1996; Ferraz *et al.*, 2003, 2007, 2009; Campos-Krauer y Wisely, 2010).



Figura 2.2. Fotografía de dos ejemplares tomada en el Parque Nacional El Palmar, Entre Ríos. Julio de 2022.

### 2.3 Estado de conservación y usos históricos de la especie

El carpincho ha sido explotado por años para su consumo, tanto por su carne, un recurso alimenticio de importancia en la economía regional, como por su cuero, insumo clave de la industria talabartera argentina desde sus orígenes. En la antigüedad, la carne de carpincho constituía un gran recurso alimenticio para la mayoría de las poblaciones nativas sudamericanas. Hoy en día, sigue siendo un alimento de alta importancia en las comunidades más empobrecidas de las riberas de ríos, arroyos, lagunas y humedales del sur del continente americano (Allekotte, 2003). También se utiliza como subproducto la grasa en la industria cosmética y con uso medicinal para enfermedades respiratorias en Brasil (Sarango, 2011), sin embargo, este uso no cuenta con la aprobación de la Autoridad de Aplicación Nacional en nuestro país (Yornet *et al.*, 2016). Según Moreira y Macdonald (1996) el carpincho presenta importantes características que favorecen su cría doméstica, como una tasa de crecimiento rápida, alto rendimiento reproductivo, actividad social y una dieta económica.

En cuanto al marco legal de su uso y conservación, a nivel internacional, la especie

ha sido categorizada como Preocupación Menor (LC, por sus siglas en inglés *Least Concern*) por la IUCN (2016) y no se encuentra evaluada, así como tampoco incluida, entre los apéndices de la Convención Internacional Sobre el Tráfico de Especies Silvestres (CITES) (Dirección de Fauna Silvestre y Conservación de la Biodiversidad, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable, 2022). Asimismo, a nivel nacional la especie ha sido caracterizada como Preocupación Menor (LC) (Bolkovic *et al.*, 2019) debido a su amplia distribución, a que sus tamaños poblacionales se consideran relativamente estables y a la reciente ampliación del rango de distribución. Sin embargo, los grados de amenaza a nivel regional son variables. Por ejemplo, en la región Chaco-pampeana de Argentina la especie ha sido clasificada como Cercana a la Amenaza (NT, de sus siglas en inglés *Near Threatened*) (SAREM, 2012) principalmente debido a la larga historia de sobreexplotación que ha sufrido, así como también por la transformación de humedales en pastizales ganaderos (como ocurrió en la porción no insular del Bajo Delta bonaerense; Sica *et al.*, 2016), por lo que la probabilidad de extinciones locales es muy elevada (Bolkovic *et al.*, 2006; Schivo *et al.*, 2015).

Estrategias eficaces de conservación y manejo de las poblaciones de carpinchos requieren una evaluación exhaustiva de la diversidad genética y de la distribución espacial de las variaciones genéticas.

## 2.4 Filogeografía y ADN mitocondrial

Los análisis filogeográficos permiten inferir procesos demográficos históricos tales como el flujo génico, patrones de migración y secuencias de colonización, tamaño efectivo poblacional, cuellos de botella y también identificar unidades de conservación (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). Particularmente en el caso de especies con algún grado de amenaza, sea a nivel local o regional, la determinación de linajes de evolución independiente o en proceso de diferenciación, son relevantes para la toma de decisiones de manejo y conservación. Un objetivo fundamental en el campo de la genética de la conservación consiste en identificar unidades de manejo, las cuales representan poblaciones demográficamente autónomas e independientes entre sí. Según Palsbøll *et al.* (2007), las unidades de manejo se refieren a poblaciones de una misma especie que han desarrollado diferenciación genética debido a que el grado de intercambio de individuos entre estas poblaciones no es lo suficientemente alto como para contrarrestar las diferencias genéticas que se han acumulado en cada unidad. Además, define que en la práctica, la determinación de las Unidades de Conservación se basa en el criterio de Unidad Evolutivamente Significativa (UES) propuesto por Moritz (1994). Una UES es una población (o conjunto de ellas) que presenta monofilia recíproca para linajes de DNA mitocondrial y divergencia significativa en las frecuencias alélicas para *loci* nucleares, respecto a otras UES. Mientras que, las unidades de manejo (UMs) se definen como cualquier población que intercambia tan pocos migrantes con otras poblaciones que se destaca como genéticamente distinta de ellas. Para determinar que dos subpoblaciones pertenecen a diferentes UMs, deben poseer divergencia significativa en las frecuencias alélicas de *loci* nucleares o mitocondriales, independientemente de la distinción filogenética de los alelos. La mayoría de los análisis de este tipo en especies animales, se basan en el uso de secuencias de ADN mitocondrial (ADNmt), dado que presenta una alta tasa de mutación, no recombina y su herencia es casi exclusivamente materna (Lanteri y Confalonieri, 2003). Actualmente, son escasos los estudios de estructuración poblacional del carpincho al sur de su distribución, principalmente en la región Chaco-Pampeana (Byrne *et al.*, 2022).

Los análisis de polimorfismos del ADNmt permiten revelar relaciones filogenéticas entre especies relacionadas y dentro de poblaciones de la misma especie. Con pocas excepciones, el genoma de ADNmt consiste en una molécula de ADN circular que ronda entre los 15000 y 20000 pares de bases de largo. Este genoma incluye 13 genes codificantes de proteínas, 22 genes que expresan ARNt y dos genes para ARNr; así como también, contiene un segmento no codificante de alrededor de 1000 pb que se conoce como región de control mitocondrial que indica donde inicia la replicación y la transcripción. Esta región toma el nombre de “región rica en A-T” en invertebrados y región “D-loop” para vertebrados (Taberlet, 1996). La Región Control presenta niveles de variación superiores que las secuencias codificantes de proteínas debido a su baja presión selectiva (Arif y Khan, 2009), y se encuentra dividida en tres dominios: un dominio conservado central y dos periféricos (regiones hipervariables 1 y 2) altamente divergentes (Saccone *et al.*, 1991). Es la variación intraespecífica que presenta el D-loop mitocondrial lo que lo convierte en un marcador adecuado para estudios de variabilidad genética, filogeografía y asignación de unidades de manejo (Kohn y Wayne, 1997).

Debido a los altos niveles de polimorfismo detectados en la región control mitocondrial, así como su relativamente fácil amplificación a partir de muestras de ADN obtenidas por métodos no invasivos, dicho marcador ha sido ampliamente utilizado en estudios de diversidad genética, estructura poblacional y asignación de unidades de manejo de carpincho (Campos-Krauer y Wisely, 2010; Borges-Landáez *et al.*, 2012; Byrne *et al.*, 2015, 2017, 2019; Ruíz-García *et al.*, 2016). Actualmente los trabajos en genética de poblaciones para esta especie se encuentran restringidos al norte de la región chaco-pampeana (Campos-Krauer y Wisely, 2010) y al centro de esta región (Byrne *et al.*, 2015, 2019; González-Barbosa, 2021). Sin embargo, no hay trabajos publicados respecto a la variabilidad genética y filogeografía de las poblaciones que se encuentran en la provincia de Buenos Aires y son muy pocos los que incluyen muestras del este de la provincia de Entre Ríos (Byrne *et al.*, 2015, 2019; González-Barbosa, 2021).

# **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### 3. Hipótesis

Las poblaciones de carpincho al sur de su distribución, específicamente en la región Chaco-pampeana, presentan una alta conectividad que se establece por la fuerte dependencia de la especie a los cursos de agua para los procesos de dispersión, asociada a la extensa red hidrográfica de la región.

#### **Predicciones:**

1. Alta variabilidad genética: Se espera encontrar una marcada diversidad genética en las poblaciones de carpinchos en la región Chaco-pampeana. Esta variabilidad se establecerá por altos valores de diversidad nucleotídica y haplotípica en la región control de ADN mitocondrial.
2. Baja divergencia poblacional: Se anticipa que las diferencias genéticas entre las poblaciones de carpinchos en esta región serán escasas. Se prevé la presencia de haplotipos compartidos entre las poblaciones debido a la conexión proporcionada por la red hidrográfica, facilitando la interacción genética entre ellas.

### 4. Objetivos

#### 4.1 Objetivo general

Caracterizar la variabilidad genética existente en poblaciones de carpinchos del noroeste de la provincia de Buenos Aires, centro-este y sur de Entre Ríos (llanura pampeana) a través del marcador molecular región control de ADN mitocondrial.

#### 4.2 Objetivos específicos

1. Generar un banco de tejidos y ADN para las poblaciones de *H. hydrochaeris* del noroeste de la provincia de Buenos Aires, centro-este y sur de Entre Ríos.
2. Obtener secuencias de un fragmento de la región control mitocondrial (HVRI) para las muestras colectadas.
3. Inferir las relaciones evolutivas y filogenéticas entre las poblaciones estudiadas y otras pertenecientes a la región Chaco-pampeana previamente caracterizadas con el mismo fragmento de la región control que se utilizará en este trabajo.
4. Analizar los resultados obtenidos en un contexto de conservación y manejo de la especie.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 5.1 Área de estudio

El área de estudio comprende el sur de la distribución actual del carpincho, en la región Chaco-pampeana (Fig. 5.1). Esta región se caracteriza por poseer una extensa red hidrográfica, formada por pocos ríos de escasa pendiente y baja capacidad en la llanura chaqueña, mientras que en la parte correspondiente a la llanura pampeana el clima garantiza una buena provisión de agua de lluvia. Principalmente el trabajo estuvo enfocado en la ecorregión Pampeana húmeda, abarcando el noroeste de la provincia de Buenos Aires y Entre Ríos. El clima húmedo de la ecorregión, ligado a las características geoquímicas de los materiales sedimentarios, junto a los ciclos vegetativos del pastizal, favorecen el desarrollo de suelos con altos contenidos de materia orgánica y nutrientes, que les brindan una excelente aptitud agrícola. Es por ello que, la ecorregión Pampeana constituye el ecosistema de praderas de mayor importancia en nuestro país (Pisano y Pommarés, 2017).

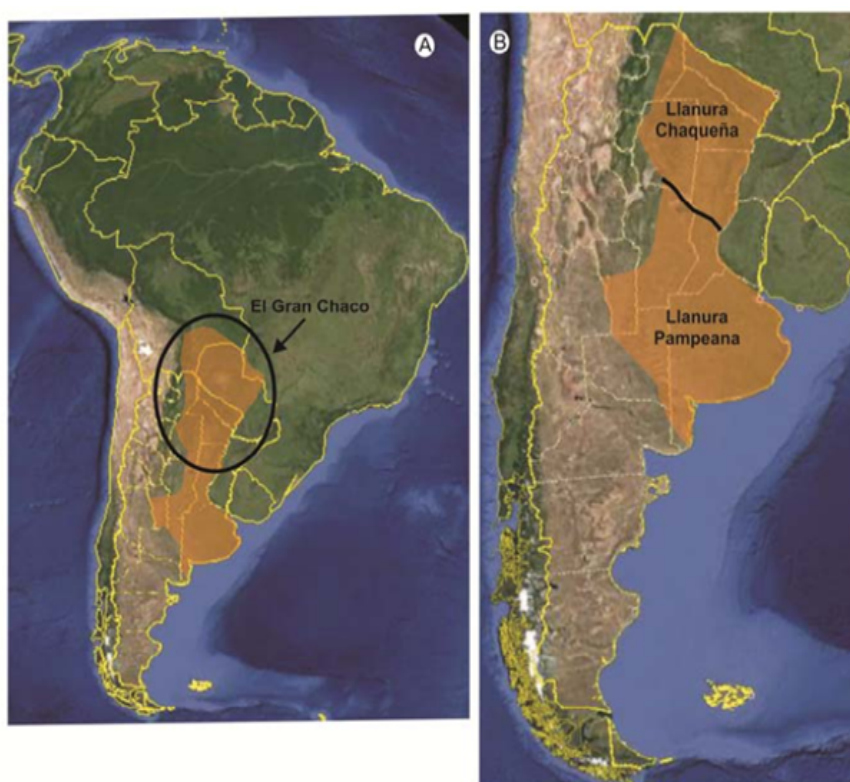


Figura 5.1. Mapa de la región Chaco Pampeana, y su extensión a nivel regional (A) y local (B). Modificado de Pisano y Pommarés (2017).

En la provincia de Buenos Aires se destacan seis cuencas de ríos principales: Río Areco, Luján, Salado, Tapalqué, Quequén Salado y Sauce Grande; mientras que en la provincia de Entre Ríos, las cuencas de ríos más distinguidas son las pertenecientes a los ríos Uruguay, Paraná, Gualaguay, Gualaguaychú, arroyo Nogoyá, y Ríos Guayquiraró y Mocoretá al norte de la provincia (Matteucci, 2012; Pisano y Pommarés, 2017). En este trabajo se analizaron muestras provenientes de las cuencas del Río Arrecifes, Río Areco, Río Luján, Río Salado, Río Quequén Salado, Cuenca de A° Grande y A° Dulce y de las cuencas de los ríos Uruguay, Gualaguay, Gualaguaychú y cuenca Bajo Delta.

## 5.2 Colecta de muestras

El trabajo se desarrolló a partir de muestras colectadas en diferentes localidades

de la provincia de Buenos Aires y de Entre Ríos provenientes de animales atropellados y restos de animales predados, de las que se obtuvieron fragmentos de tejido muscular o cuero. Se recolectaron un total de 22 muestras, que fueron depositadas en la base de tejidos del Laboratorio de Biodiversidad y Genética Poblacional de Mamíferos del Centro de Bioinvestigaciones (CeBio, UNNOBA-CIC). También se contó con ADN de 15 individuos, cedidos y donados por el Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES-CONICET) de la Universidad Nacional de Luján (UNLu) y el Dr. Rubén Quintana.

En la figura 5.2 se puede observar la distribución de las muestras colectadas, agrupadas por localidad. Como se describe en la tabla 5.1, se contó con 22 muestras pertenecientes a la provincia de Buenos Aires y 15 correspondientes a distintas localidades de Entre Ríos. En total, el banco de muestras con el que se cuenta actualmente en el Laboratorio de Biodiversidad y Genética Poblacional de Mamíferos del CeBio, corresponde a 37 individuos de la especie.

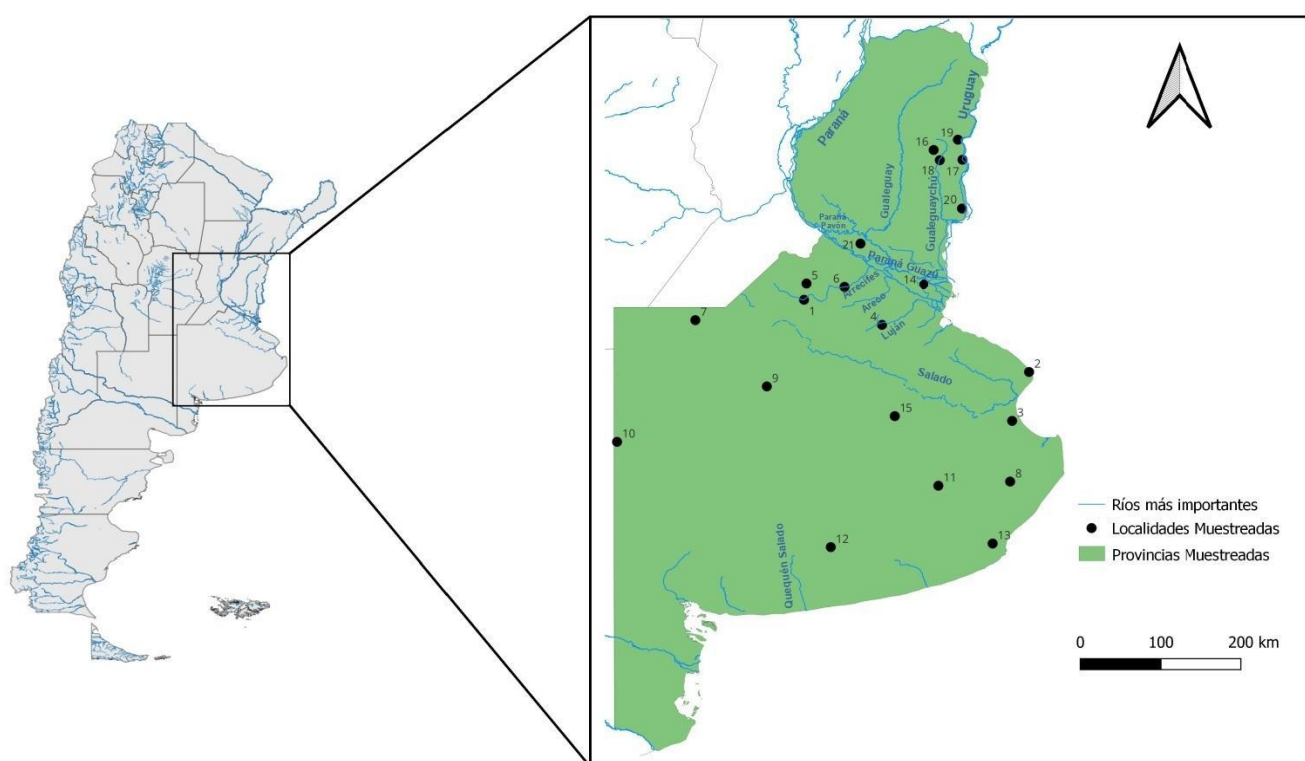


Figura 5.2. Localidades muestreadas en el presente estudio: 1-Hunter; 2-Punta Indio; 3-Castelli; 4-Mercedes; 5-Rancagua; 6-Capitán Sarmiento; 7-Germania; 8-Estancia "San Simón"; 9-Cambaceres; 10-Pellegrini; 11-Ayacucho; 12-Adolfo Gonzales Chaves; 13-Sierra de los Padres 14-Bajo Delta; 15-Estancia "Don Pedro"; 16-Colonia San Miguel; 17-Villa Elisa; 18-Colonia La Suiza; 19-Parque Nacional "El Palmar"; 20- Gualeguaychú; 21- Islas de las Lechiguanas.



Tabla 5.1: En la tabla se indica para cada provincia muestreada, el partido/departamento, localidad, la cantidad de muestras obtenidas por localidad (N), coordenadas geográficas de los sitios de colecta, la identificación en el mapa y la fuente de obtención de las muestras.

Provincia	Departamento	Localidad	N	Latitud	Longitud	ID mapa	Fuente de obtención
Buenos Aires	Hunter	Hunter	2	-34,27099	-60,54665	1	Este trabajo
	Punta Indio	Punta Indio	2	-35,35008	-57,18955	2	
	Castelli	Castelli	1	-36,08492	-57,44318	3	
	Mercedes	Mercedes	1	-34,64813	-59,38140	4	
	Pergamino	Rancagua	2	-34,02700	-60,51010	5	
	Capitán Sarmiento	Capitán Sarmiento	1	-34,07717	-59,94156	6	
	General Pinto	Germania	1	-34,57762	-62,17154	7	
	Maipú	Estancia "San Simón"	1	-36,99759	-57,47278	8	
	9 de julio	Cambaceres	1	-35,56713	-61,10279	9	
	Pellegrini	Pellegrini	1	-36,40019	-63,34162	10	
	Ayacucho	Ayacucho	1	-37,05985	-58,54537	11	
	Adolfo Gonzales Chaves	Adolfo Gonzales Chaves	1	-37,98282	-60,14696	12	INEDES-CONICET; UNLu; Quintana,R.
	General Pueyrredón	Sierra de los Padres	5	-37,92919	-57,73402	13	
	Bajo Delta	Bajo Delta Bonaerense	1	-34,06000	-58,22000	14	
	Las Flores	Estancia "Don Pedro"	1	-36,01409	-59,19013	15	Este trabajo
Entre Ríos	Colón	Colonia San Miguel	1	-32,01916	-58,61602	16	
	Colón	Villa Elisa	2	-32,16588	-58,18453	17	
	Colón	Colonia La Suiza	2	-32,17269	-58,52444	18	
	Colón	PN El Palmar	2	-31,86469	-58,25373	19	
Entre Ríos	Gualeduaychú	Estancia "El potrero"	4	-32,89938	-58,19184	20	INEDES-CONICET; UNLu; Quintana, R.
	Gualeduay	Islas de las Lechiguanas (Bajo Delta Paranaense)	4	-33,42719	-59,70291	20	

### 5.3. Trabajo de laboratorio

Para el análisis se trabajó con la región hipervariable 1 de la región control mitocondrial como marcador, lo que permitió realizar comparaciones con trabajos previamente realizados sobre la distribución y filogenia de la especie en otras áreas de estudio como el norte de la región chaco-pampeana.

#### 5.3.1 Extracción del ADN

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el protocolo modificado de extracción con Cloruro de Sodio (Aljanabi y Martinez, 1997). Asimismo, se realizaron extracciones con el protocolo de extracción Fenol-Cloroformo (Sambrook *et al.*, 1989), en aquellas muestras en las que no se obtuvieron buenos resultados con el primer método de extracción. El éxito de las extracciones se corroboró a partir de electroforesis de gel de agarosa 1% teñido con bromuro de etidio y se observó bajo luz ultravioleta.

#### 5.3.2 Amplificación del ADN

Para llevar a cabo los análisis genéticos se amplificó por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) un fragmento de ADN mitocondrial de aproximadamente 545 pb correspondiente a la región control mitocondrial, la cual incluye una parte de la región hipervariable 1 (HVRI). Los *primers* utilizados fueron HV1-F (5'-CCCACCATCAGTACCCAAA-3') y HV1-R (5'-CGAGATGTCTTATTTAAGGGGAAC-3') desarrollados por (Borges-Landáez *et al.*, 2012). Las reacciones de PCR se realizaron con un volumen final de 20  $\mu$ L y contenían buffer Invitrogen a una concentración final de 1X, 1,5 mM de MgCl, 0,2 mg/ml de BSA, 0,3  $\mu$ M de cada primer, 0,1 mM de dNTPs y 0,05 U de Taq Polimerasa y aproximadamente 2-6 ng/ $\mu$ L de ADN. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador *Gene Pro ThermalCycler (BioerTechnology CO., LTD)* y consistieron en una desnaturalización inicial a 94°C por 3 minutos, seguida de 45 ciclos conformados de la siguiente manera: desnaturalización a 94°C por 45 segundos, hibridación a 50°C por 45 segundos y extensión a 72°C por 90 segundos. Por último, se agregó un ciclo de extensión final a 72°C por 25 minutos. Para todas las PCR se incluyeron tanto controles negativos como positivos, para descartar la existencia de contaminación y verificar la eficiencia de la reacción de PCR, respectivamente.

Los productos de amplificación se corroboraron a partir de electroforesis de gel de agarosa 1% teñido con bromuro de etidio y observado bajo luz ultravioleta (Figura 5.3). Para inferir el tamaño de los fragmentos, se utilizó un marcador de peso molecular de 100pb de precisión (Productos Bio-Lógicos). La concentración de ADN se cuantificó utilizando el programa ImageJ (Abrámoff *et al.* 2004).

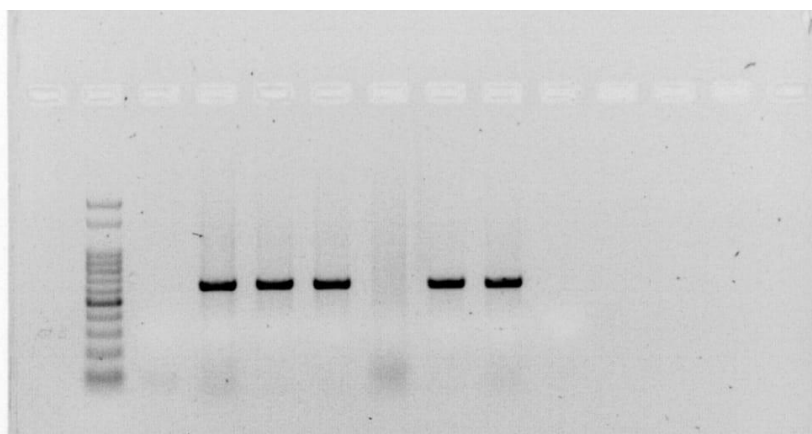


Figura 5.3. Fotografía de productos de PCR en gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio y visualizado con luz ultravioleta.

### 5.3.3 Secuenciación de los fragmentos amplificados

Los productos amplificados fueron purificados y secuenciados por el método Sanger utilizando el secuenciador automático ABI Prism 3100 (Applied Biosystem) de la Empresa MACROGEN (Corea del Sur, [www.macrogen.com](http://www.macrogen.com)).

## 5.4 Análisis de los datos

### 5.4.1 Escala local

De las 29 secuencias que se obtuvieron de la secuenciación, 28 fueron utilizadas para el análisis de datos. Una debió ser descartada ya que presentó un elevado número de ambigüedades que no pudieron ser resueltas en la edición manual de la misma, y esto podría generar falsos sitios polimórficos y sesgar el resultado final (Figura 5.4). Las secuencias obtenidas fueron visualizadas y corregidas utilizando el programa BioEdit (Hall, 2004). Se realizó un alineamiento mediante el algoritmo ClustalX del programa MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021).

### 5.4.2 Escala regional

Se realizó un alineamiento múltiple utilizando el conjunto de secuencias obtenidas en este estudio y otras generadas para el fragmento elegido en poblaciones de carpincho de la región Chaco-pampeana (n=129; Anexo II), disponibles en la base de datos genéticos GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (números de acceso: GU456363-376). Para dicho alineamiento se utilizó el algoritmo ClustalX del programa MEGA11 (Tamura *et al.*, 2021). Si bien las secuencias obtenidas poseen un largo de aproximadamente 500 pb, para este set de datos solamente se utilizaron 246 pb para poder realizar un análisis que incluya las secuencias utilizadas por Byrne *et al.* (2019). Posteriormente, se clasificaron las secuencias en haplotipos de forma manual, y también utilizando el programa DNASP6 (Rozas *et al.*, 2017) como modo de verificación.

A partir del alineamiento múltiple obtenido, fueron generados los árboles

filogenéticos mediante diferentes métodos de reconstrucción filogenética utilizados en trabajos previos como los de Byrne *et al.* (2019): máxima verosimilitud (MV) utilizando el programa MEGA11; e inferencia bayesiana (IB), este último utilizando el paquete informático BEAST 1.8.1 (Drummond y Rambaut, 2007). Para ambos métodos, se empleó jModelTest 2 (Darriba *et al.*, 2012) con el propósito de identificar el modelo de sustitución nucleotídica más apropiado para nuestros datos. Siguiendo el criterio de información bayesiano (BIC, por sus siglas en inglés) (Schwarz, 1978), se determinó que el modelo óptimo correspondía al de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY-G) (Hasegawa *et al.*, 1985) con una distribución gamma. Para el método MV, la robustez de los resultados se evaluó mediante 1000 réplicas de Bootstrap, mientras que para IB, se tuvieron en cuenta los valores de probabilidad posterior (PP), dado que proporcionan una evaluación del grado de soporte de cada nodo en el árbol. El grupo externo empleado para el enraizamiento fue *Agouti paca* (Linnaeus, 1766), especie que pertenece a la misma superfamilia que el carpincho, *Cavioides* (Rowe y Honeycutt, 2002). El uso de la misma metodología para la construcción de los árboles que los utilizados en la bibliografía consultada, permitió hacer comparaciones e inferencias con otras poblaciones de la región Chaco-Pampeana previamente estudiadas.

Tanto a escala local como regional, para la obtención de indicadores de variabilidad genética, como la diversidad haplotípica, nucleotídica, y el número de sitios polimórficos y haplotipos se utilizó el programa DNASP6 (Rozas *et al.*, 2017). Las relaciones haplotípicas fueron obtenidas mediante el algoritmo *median joining* (Bandelt *et al.*, 1999) a través del programa PopART v1.7 (Leigh y Bryant, 2015). Una vez obtenidos los haplotipos para ambos conjuntos de datos, se utilizó el software libre *QGIS: Geographic Information System* (<http://www.qgis.org>) para el armado de los mapas de distribución de haplotipos.

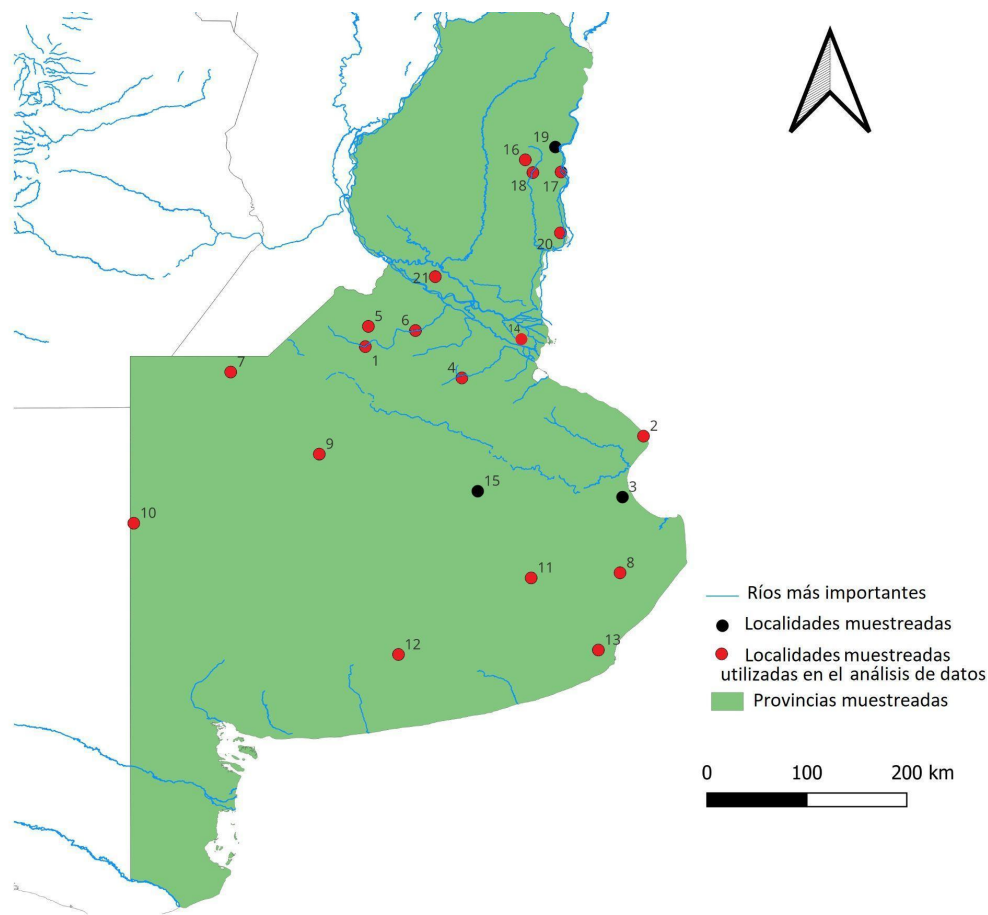


Figura 5.4. Localidades muestreadas utilizadas en el análisis de datos: 1-Hunter; 2-Punta Indio; 4-Mercedes; 5-Rancagua; 6-Capitán Sarmiento; 7-Germania; 8-Estancia "San Simón"; 9-Cambaceres; 10-Pellegrini; 11-Ayacacucho; 12-Adolfo Gonzales Chaves; 13-Sierra de los Padres 14-Bajo Delta; 16-Colonia San Miguel; 17-Villa Elisa; 18-Colonia La Suiza; 20- Estancia "El potrero"; 21- Islas de las Lechiguanas.

Para evaluar la estructuración de la variabilidad genética a diferentes niveles se aplicó un análisis de la varianza molecular (AMOVA; Excoffier *et al.*, 1992), en el programa ARLEQUÍN Versión 3.11 (Excoffier y Ray, 2008). Las secuencias fueron agrupadas en ocho poblaciones según la cuenca hídrica a la cual pertenecen (Tabla 5.2) y estas en tres grupos más inclusivos considerando la conectividad de dichas cuencas (Buenos Aires, Entre Ríos y Bajo Delta). Para el análisis y la determinación de la presencia de estructura poblacional, se estimaron los índices de fijación de Wright ( $F_{ST}$ ,  $F_{CT}$  y  $F_{SC}$ ). Además, se realizó un análisis bayesiano de agrupamiento con el programa BAPs v6 (Corander *et al.*, 2013) para determinar el número de clusters genéticos existentes en el set de datos completo, con condiciones de corrida de  $k$  de 1 a 10 y 5 réplicas.

Tabla 5.2. Muestras analizadas indicadas por localidad, agrupadas como poblaciones según cuenca hídrica.

<b>Localidad</b>	<b>N</b>	<b>Cuenca</b>	<b>Provincia</b>
Estancia "El Potrero"	1	Río Uruguay (RU)	Entre Ríos
Villa Elisa	1		
Colonia "San Miguel"	1	Río Gualeguaychú (RG)	
Colonia "La Suiza"	2		
Capitán Sarmiento Rancagua Hunter	5	Río Arrecifes (RA)	Buenos Aires
Mercedes	1	Río Luján (RL)	
Punta Indio Cambaceres Pellegrini Germania	5	Río Salado (RS)	
Adolfo Gonzalez Chávez	1	Río Quequén Salado (RQS)	
Ayacucho Estancia "San Simón" Sierra de los Padres	7	A° Grande y A° Dulce (AGAD)	
Islas de las Lechiguanas Bajo Delta Bonaerense	4	Delta del Paraná (DP)	

# **RESULTADOS**

## 6.1 Extracción y amplificación

El éxito de extracción fue del 81,81%, dado que, se logró extraer eficazmente ADN de 18 de las 22 muestras con las que se contaba. Esto puede deberse a posibles contaminantes en los tejidos o a la posibilidad de que el ADN se haya degradado por enzimas degradativas o por presencia de inhibidores.

En cuanto a las amplificaciones por PCR, se lograron amplificar 12 de las 15 muestras proporcionadas por INEDES-CONICET; UNLu; Quintana, R. Respecto a las muestras colectadas por el grupo, se lograron amplificar 17 de las 18 a las que se les extrajo ADN. El éxito de la amplificación fue del 87,87%. En total, se contó con 29 muestras con región control (545 pb) amplificadas.

## 6.2 Estimaciones de variabilidad genética

### 6.2.1 Escala local

Luego de la edición manual de los fragmentos de HVRI, se analizó un total de 28 secuencias de 487 pb que corresponden a distintas localidades de la provincia de Buenos Aires y de Entre Ríos (Tabla 6.3). En total se encontraron nueve haplotipos, en los que se destacan 11 sitios polimórficos, de los cuales seis fueron informativos por parsimonia (Tabla 6.4). De estos sitios polimórficos, la mayoría fueron transiciones, con presencia de una transversión y ninguna inserción/delección

Tabla 6.3 Lista de las localidades de donde provienen las secuencias que se agrupan en cada haplotipo.

Haplotipo	Localidad	N	Provincia
Hap_1	Punta Indio	2	Buenos Aires
	Germania	1	
	Pellegrini	1	
	Ayacucho	1	
	Cambaceres	1	
	Mercedes	1	
	Hunter	2	
	Sierra de los Padres	4	
	Adolfo Gonzalez Chavez	1	
Hap_2	Capitán Sarmiento	1	Buenos Aires
	Bajo Delta Paranaense	1	Entre Ríos
Hap_3	Colonia La Suiza	2	Entre Ríos
Hap_4	Colonia San Miguel	1	Entre Ríos



	Estancia "San Simón"	1	Buenos Aires
	Rancagua	2	
Hap_5	Villa Elisa	1	Entre Ríos
Hap_6	Estancia "El Potrero"	1	Entre Ríos
	Bajo Delta Bonaerense	1	Buenos Aires
Hap_7	Sierra de los Padres	1	Buenos Aires
Hap_8	Bajo Delta Paranaense	1	Entre Ríos
Hap_9	Bajo Delta Paranaense	1	Entre Ríos

Tabla 6.4. Sitios variables observados para los nueve haplotipos obtenidos para el fragmento (487 pb) del gen HVR1 en muestras de *H. hydrochaeris*.

Haplotipos	Sitios variables										
	100	122	127	153	157	190	201	223	299	396	477
Hap_1	C	T	T	C	T	A	A	C	T	T	C
Hap_2	.	.	.	T	.	.	G	.	.	.	.
Hap_3	.	C	.	.	.	G	.	.	.	.	.
Hap_4	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
Hap_5	T	.	.	.	.	.	.	T	C	.	T
Hap_6	.	.	.	.	.	G	.	.	.	C	.
Hap_7	.	.	.	.	C	.	G	.	.	.	.
Hap_8	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.
Hap_9	.	.	A	T	.	.	G	.	.	.	.

La diversidad nucleotídica promedio arrojó un valor de  $Pi=0,003 \pm 0,002$ , mientras que el valor obtenido para la diversidad haplotípica promedio fue de  $Hd=0,735 \pm 0,082$ .

## 6.2.2 Escala regional

Luego de la edición manual de los fragmentos de HVRI, se analizó un total de 129 secuencias de 226 pb (ver Anexo II), entre las que se encuentran las obtenidas en este trabajo, las de la región Chaco-Pampeana (Argentina y Uruguay) y Paraguay. Se encontraron 18 haplotipos en total. Se halló un nuevo haplotipo en la localidad de Villa Elisa (ER), el que se suma a los otros 17 registrados previamente para la región (Tabla

6.5; Anexo III).

Como se puede observar en la tabla 6.5, de los 18 haplotipos, cinco contienen secuencias obtenidas en este trabajo. En líneas generales, se observa que de los 18 haplotipos estudiados, cuatro son exclusivos de Argentina; nueve de Paraguay, y tres haplotipos son exclusivos de localidades uruguayas.

Tabla 6.5. Lista de las localidades en las que fue encontrado cada haplotipo (H1 - H18), en este trabajo y para González-Barboza (2021), Byrne *et al.* (2019) y Campos-Krauer y Wisely (2010).

Haplotipos	Localidad			
	Este trabajo	Gonzalez-Barboza (2021) - Uruguay	Byrne <i>et al.</i> (2019)	Campos-Krauer y Wisely (2010) - Paraguay
H1	Punta Indio (BA) Germania (BA) Pellegrini (BA) Ayacucho (BA) Est. "San Simón" (BA) Cambaceres (BA) Rancagua (BA) Pergamino (BA) Mercedes (BA) Hunter (BA) Sierra de los Padres (BA) Adolfo Gonzales Chaves (BA) Colonia "San Miguel" (ER)	Farrapos	Bajo Delta (BA) Iberá (CO) San Javier (SF)	Bahía Negra Jerová Loreto Sauces Eñe Mariscal Loma Plata Maroma Arizona Olimpo Toledo
H2	Capitán Sarmiento (BA) Sierra de los Padres (BA) Bajo Delta Paranaense (ER)	Villa Serrana Salto	Bajo Delta (BA) El Palmar (ER) Iberá (CO)	-
H3	Colonia "La Suiza" (ER)	Queguay Potrerillo Santa Lucía Averías Flores Farrapos Paso Centurión Florida Villa Serrana Salto Maldonado Rincón de Franquía Laguna de Rocha	Bajo Delta (BA) El Palmar (ER) Iberá (CO)	-
H4	Estancia "El Potrero" (ER) Bajo Delta (BA)	Queguay Averías Maldonado Farrapos Rocha	Bajo Delta (BA)	-

H5	-	-	Bajo Delta (BA)	-
H6	-	-	Iberá (CO)	
H7	-	-	-	Bahía Negra Olimpo
H8	-	-	-	Bahía Negra
H9	-	-	-	Bahía Negra
H10	-	-	-	Bahía Negra
H11	-	-	-	Bahía Negra
H12	-	-	-	Loreto Sauces Loma Plata Lapacho Laguna Rey Arizona Olimpo Toledo
H13	-	-	-	Laguna Rey
H14	-	-	-	Toledo
H15	-	Maldonado	-	-
H16	-	Paso Centurión	-	-
H17	-	Farrapos	-	-
H18	Villa Elisa (ER)	-	-	-

Se han identificado 20 sitios polimórficos, de los cuales 14 fueron informativos por parsimonia. La mayoría fueron transiciones, y sólo se encontró una transversión y ninguna inserción/delección.

Tabla 6.6. Sitios variables observados para los 18 haplotipos obtenidos para el fragmento (226 pb) del gen HVR1 en muestras de *H. hydrochaeris*.

Hap	Sitios variables																			
	1	4	9	10	19	21	27	41	43	44	48	52	60	64	65	119	122	133	160	216
H1	T	C	A	A	C	A	T	C	C	T	A	G	T	T	T	T	C	T	A	T
H2	.	.	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H3	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
H4	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
H5	.	.	.	G	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

H6	.	.	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
H7	.	T	.	G	.	.	C	.	.	C	.	A	A	.	.	.	T	C	.	.
H8	.	.	.	G	T	.	C	.	.	.	.	A	A	.	.	.	T	C	.	.
H9	C	.	G	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	C	C	.	.	C	.	.
H10	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.
H11	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	C	C	.	.	C	.	.
H12	.	.	.	G	.	.	C	.	.	.	.	A	A	.	.	.	.	C	.	.
H13	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C
H14	.	.	.	G	.	.	C	.	.	C	T	A	A	.	.	C	.	C	G	C
H15	.	.	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.

La diversidad nucleotídica promedio arrojó un valor de  $Pi=0,009 \pm 0,001$ , mientras que el valor obtenido para la diversidad haplotípica promedio fue de  $Hd=0,778 \pm 0,033$ .

### 6.3 Análisis filogenético

Los árboles obtenidos a partir de las metodologías de máxima verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana, para el set de datos correspondientes al fragmento de 246 pb de la RC de ADNmt, fueron congruentes entre sí, por lo tanto, se presenta únicamente la filogenia obtenida a partir de inferencia bayesiana (Figura 6).

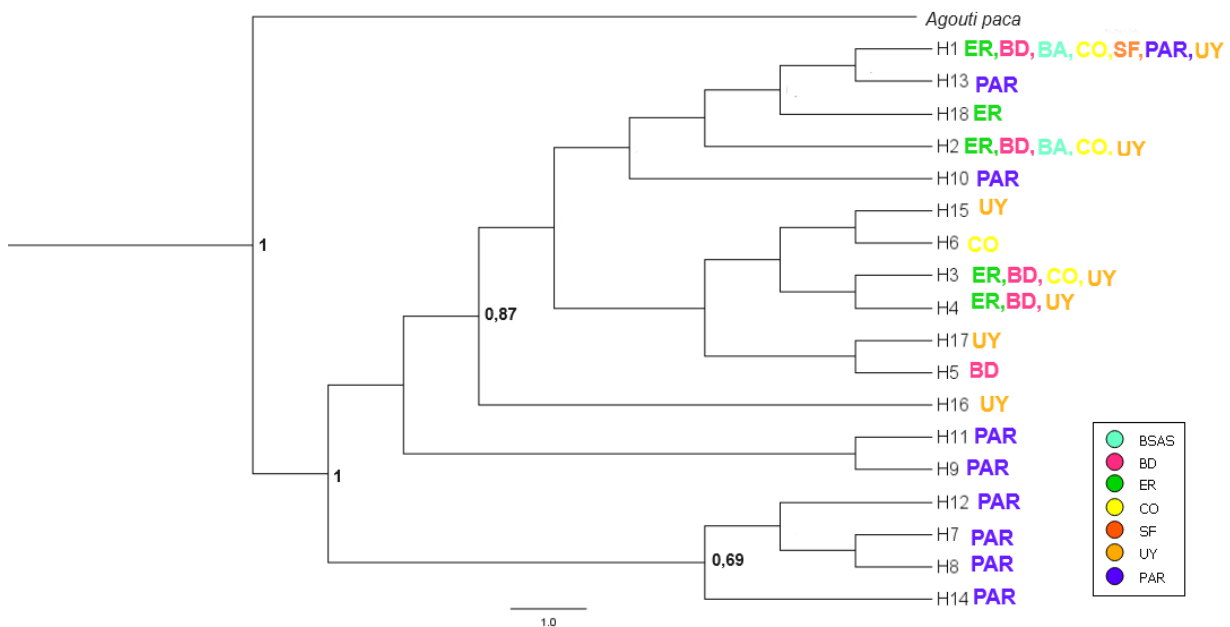


Figura 6. Relaciones filogenéticas obtenidas por inferencia bayesiana, para los 18 haplotipos obtenidos a partir de las 129 secuencias de HVR1 de ADNmt (226 pb) generadas en este estudio en conjunto con las secuencias de Campos-Krauer y Wisely (2010), Byrne *et al.* (2019) y González-Barbosa (2021). *Agouti paca* es utilizado como *outgroup*. Las abreviaturas de los nombres de las poblaciones corresponden a: BSAS (Buenos Aires); BD (Bajo Delta); ER (Entre Ríos); CO (Corrientes); SF (Santa Fe); UY (Uruguay); PAR (Paraguay). los utilizados en la tabla 6.5. Se muestran los nodos con apoyo de probabilidad posterior  $\geq 0,6$ .

## 6.4 Relaciones haplotípicas

### 6.4.1 Escala local

La red de haplotipos obtenida para el set de datos a escala local (Figura 7), presenta un patrón de estrella con un haplotipo central (Hap\_1) compuesto exclusivamente de individuos de Buenos Aires, del que se desprenden los restantes haplotipos conformados por representantes de secuencias provenientes de Buenos Aires y Entre Ríos (Hap\_4) o Entre Ríos solamente (Hap\_8). Éste último, se conecta con el haplotipo 7 (Hap\_7) del cual difiere en un paso mutacional, y con el haplotipo 2 (Hap\_2), que a su vez, se encuentra conectado al haplotipo 9 (Hap\_9). Por otro lado, y siguiendo el patrón antes descrito, del haplotipo 1 surgen el haplotipo 3 (Hap\_3) y el haplotipo 6 (Hap\_6).

En la figura 8, se puede observar la distribución geográfica de los nueve haplotipos en ambas provincias.

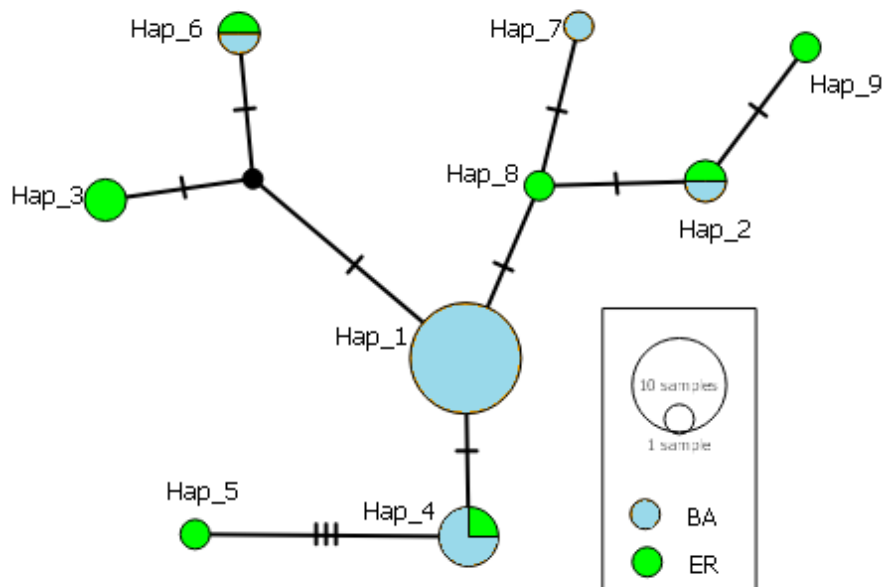


Figura 7. Relaciones haplotípicas obtenidas para los haplotipos (Hap\_1 - Hap\_9) del fragmento HVR1 (487 pb) de los individuos colectados en las provincias de Entre Ríos (ER) y Buenos Aires (BA). El diámetro de los círculos refleja la frecuencia de cada haplotipo. La longitud de las líneas de unión es proporcional al número de mutaciones existentes entre cada haplotipo, y las líneas perpendiculares a esta corresponden al número de mutaciones.

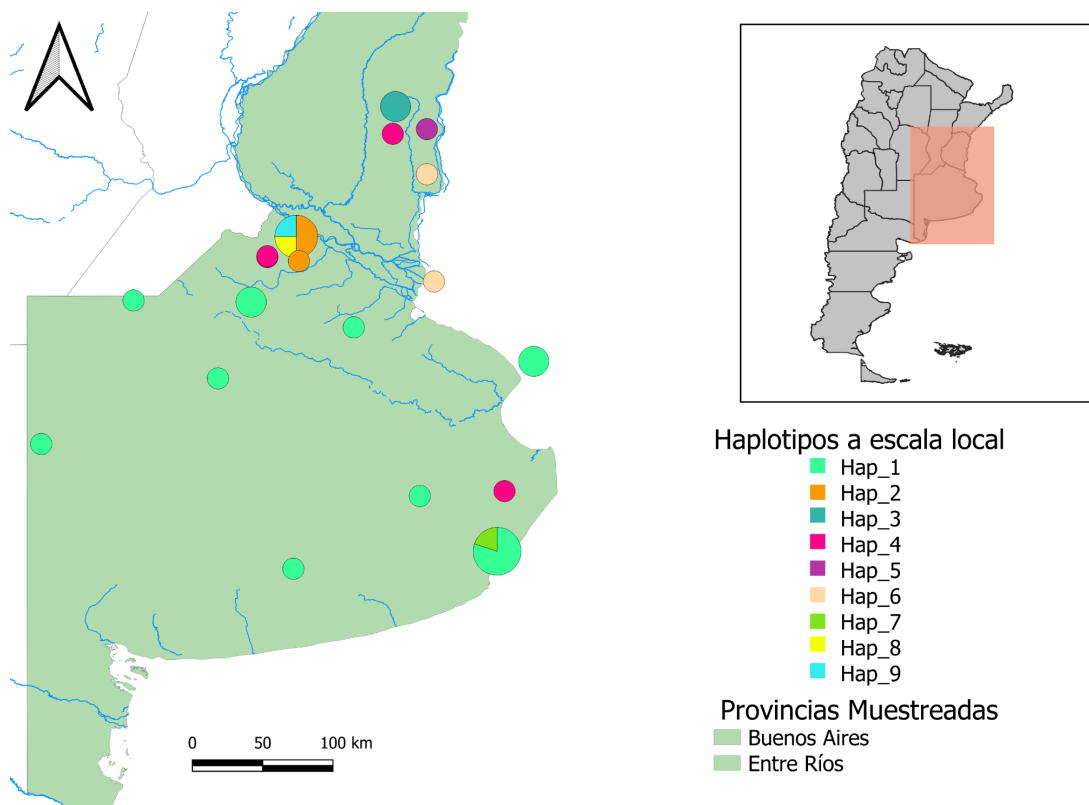


Figura 8. Mapa con la distribución espacial de los nueve haplotipos pertenecientes al fragmento de HVR1 analizado (487 pb) de las secuencias obtenidas en este estudio (n=28). El diámetro de los círculos refleja la frecuencia de cada haplotipo.

#### 6.4.2 Escala regional

Las relaciones genéticas de los 18 haplotipos obtenidos para el fragmento de 226 pb HVR1 estudiado no muestran una estructuración geográfica tal como puede ser observado en la Figura 9. La red de haplotipos obtenida mostró la existencia de dos haplotipos centrales (H3) y (H1), compuestos en su mayoría por individuos de Uruguay en el primer caso y de Paraguay y Buenos Aires en el segundo. A partir de ambos haplotipos, se desprenden por un lado, otros dos conformados por individuos de Entre Ríos, Uruguay, Bajo Delta, Buenos Aires y Corrientes (H2 y H4 respectivamente), y por otro lado, dos grupos de haplotipos exclusivos de Paraguay (H7, H8, H12 y H14; H9, H10 y H11). Del H1 divergen haplotipos exclusivos de Uruguay (H15, H17) y de Argentina (H5 y H6). Finalmente, del H17 surge un nuevo haplotipo para Argentina que no había sido descrito anteriormente (H18) (Figura 9).

Como se puede observar en la figura 9, la región más divergente es la de Paraguay ya que presenta varias mutaciones entre haplotipos.

En la figura 10 se muestra la distribución geográfica de los 18 haplotipos a lo largo de la región chaco-pampeana.

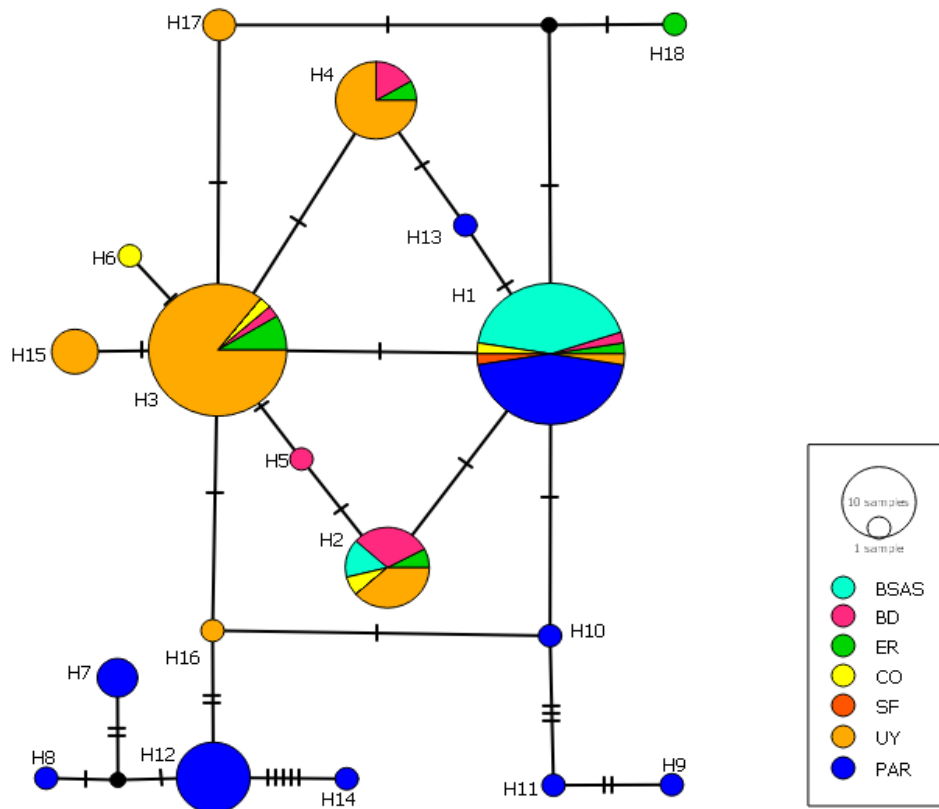


Figura 9. Relaciones haplotípicas obtenidas para las secuencias del fragmento HVR1 (226 pb) de los individuos colectados en las provincias de Entre Ríos (ER), Buenos Aires (BA) y Bajo Delta (BD) en este trabajo y las secuencias de Paraguay (PAR) de Campos-Krauer y Wisely (2010), de las localidades pertenecientes a Iberá (CO), Bajo Delta (BD), Entre Ríos (ER) y Santa Fe (SF) de Byrne *et al.* (2019) y las secuencias de Uruguay (UY) de González-Barbosa (2021). El diámetro de los círculos refleja la frecuencia de cada haplotipo. La longitud de las líneas de unión es proporcional al número de mutaciones existentes entre cada haplotipo, y las líneas perpendiculares a esta corresponden al número de mutaciones.

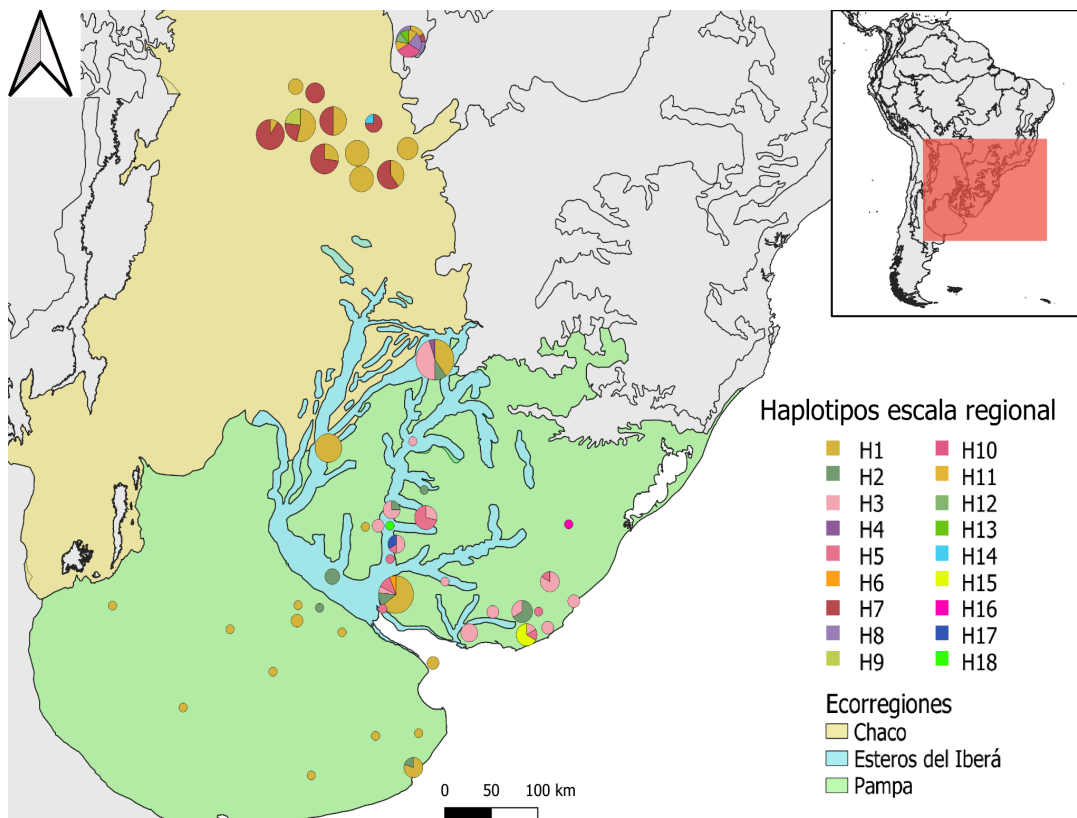


Figura 10. Mapa con la distribución espacial de los 18 haplotipos pertenecientes al fragmento de HVR1 analizado (226 pb) correspondiente al set de datos de escala regional (n=129). El diámetro de los círculos refleja la frecuencia de cada haplotipo.

## 6.5 Identificación de clusters genéticos

El análisis de la estructura poblacional mediante método bayesiano (Figura 11), permitió identificar cinco clusters: tres se encuentran presentes en Argentina, Uruguay y Paraguay, mientras que los otros dos (cluster 4 y 5) son exclusivos de este último país, coincidiendo con lo reportado en otros estudios filogenéticos.

El cluster 2 está presente en la mayoría de las localidades argentinas, a excepción de las muestras provenientes de la provincia de Santa Fe, y en todo Uruguay; mientras que el cluster 3 se halla en todas las poblaciones analizadas. En cuanto a las secuencias provenientes de Uruguay, se agruparon en su mayoría en el cluster 2, y en menor proporción, en los clusters 1 y 3. En cambio, en las poblaciones de Paraguay, se identificaron tres clusters: 3, 4 y 5. Se puede observar que no hay una estructuración marcada en nuestro set de datos, dado que tres de los cinco clusters encontrados están compuestos por individuos de la mayoría de las poblaciones analizadas en este trabajo.



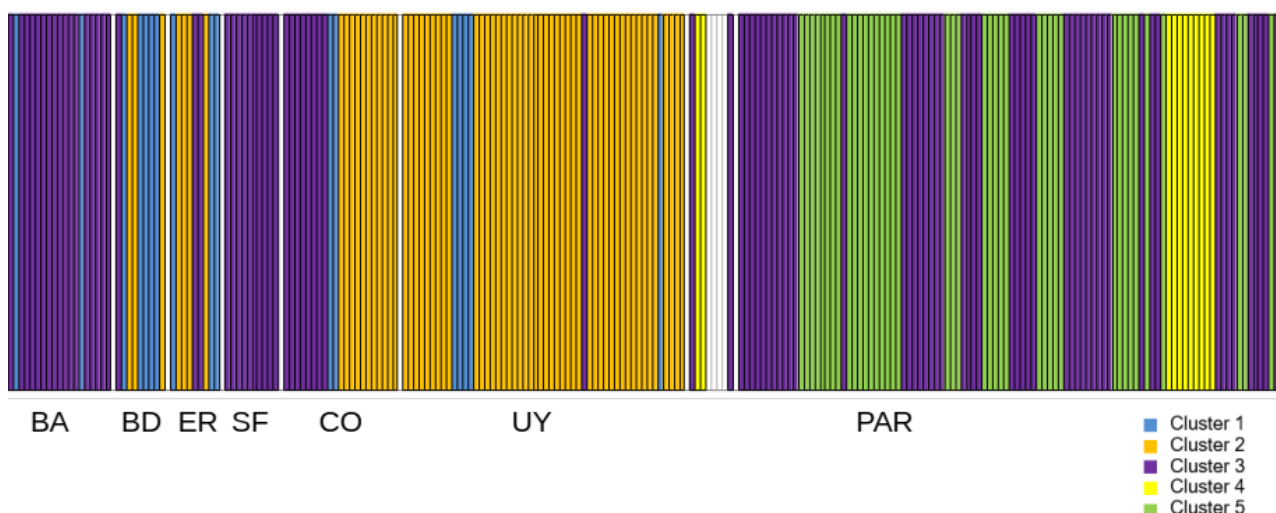


Figura 11. Análisis de asignación bayesiana de secuencias de HVR1. Cada barra vertical representa un individuo. Referencias: cluster 1 (celeste), cluster 2 (naranja), cluster 3 (violeta), cluster 4 (amarillo), cluster 5 (verde), individuos no asignados (blanco). Las abreviaturas utilizadas corresponden a: BSAS (Buenos Aires); BD (Bajo Delta); ER (Entre Ríos); CO (Corrientes); SF (Santa Fe); UY (Uruguay); PAR (Paraguay)

## 6.6 Estructuración poblacional a nivel local

Se detectó estructura genética entre las poblaciones debido a que el valor de  $F_{ST}$  global fue significativo ( $F_{ST}=0,211$ ;  $p=0,013$ ).

Al agrupar a las poblaciones en tres grupos (“Entre Ríos”, “Buenos Aires” y “Bajo Delta”), el AMOVA mostró un valor de  $F_{CT}=0,295$  ( $p=0,006$ ) y  $F_{ST}=0,308$  ( $p=0,018$ ); lo que indicó que existen diferencias entre los grupos evaluados y entre las poblaciones, respectivamente. Como se observa en la tabla 6.7, el 29,54% de la variación es explicada por la diferencia entre grupos, el 1,30% de la varianza se explica por las diferencias entre las poblaciones dentro de un mismo grupo y el 69,15% de la varianza es explicada por la variación dentro de las poblaciones. Si bien se trabajó con un N bajo, tanto los valores de  $F_{ST}$  como el  $F_{CT}$  fueron significativos.

Tabla 6.7. Resultados del análisis de la varianza molecular (AMOVA).

Fuente de variación	d.f	Suma de cuadrados	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación	Valor de índice de fijación	P-value
Entre Grupos	2	5,952	0.319 $F_{CT}$	29,54	$F_{CT}:0,295$	0,006
Entre poblaciones dentro del grupo	5	3,962	0.014 $F_{SC}$	1,30	$F_{SC}:0,018$	0,320
Dentro de las poblaciones	20	14,943	0.747 $F_{ST}$	69,15	$F_{ST} :0,308$	0,018

# **DISCUSIÓN**

## **7.1 Variabilidad genética**

### **7.1.1 Escala local**

La variabilidad genética hallada para las poblaciones de Buenos Aires y Entre Ríos, resultó ser moderada ( $Hd=0,735$ ), mayor que la reportada por Campos-Krauer y Wisely (2010) para poblaciones de Paraguay ( $Hd=0,09-0,18$ ), y comparable con la hallada por Perdomo Martínez (2007) en poblaciones de Venezuela ( $Hd=0,6-0,8$ ), utilizando un fragmento de la región control del ADNmt de similar longitud al empleado en este trabajo. Además, se encontró un haplotipo, que no había sido detectado en estudios previos y que correspondió a la provincia de Entre Ríos.

Los valores moderados de diversidad haplotípica hallados en esta zona, sugerirían un posible escenario de estabilidad poblacional, y/o la existencia de flujo génico entre poblaciones, lo que podría estar relacionado con la recuperación del tamaño de las poblaciones de carpincho debido a la disminución de la caza furtiva para la obtención del cuero (Bolkovic *et al.*, 2019). Adicionalmente se plantea que los cambios en el régimen de las precipitaciones y la ocurrencia de inundaciones podrían ser las causas que expliquen la expansión del rango de distribución de la especie detectada hacia zonas del sur de la provincia de Buenos Aires (Bolkovic *et al.*, 2019). En consecuencia, al contar con una mayor disponibilidad de agua, los carpinchos pudieron haber dispersado hacia nuevos sitios, ubicados en una misma cuenca o entre diferentes cuerpos de agua. Sin embargo, estos resultados deben tomarse con cautela, debido a que el número de muestras obtenido en cada sitio para este trabajo fue bajo; y además, se ha demostrado que la diversidad haplotípica se correlaciona significativamente con el tamaño muestral (Méndez *et al.*, 2010), por lo que son necesarios nuevos estudios que incluyan una mayor cantidad de secuencias por punto de muestreo.

### **7.1.2 Escala regional**

De la misma manera, en el análisis a escala regional, la diversidad haplotípica hallada ( $Hd=0,778$ ) fue similar a la reportada por Byrne *et al.* (2022) para poblaciones de Paraguay y Argentina ( $Hd=0,717-0,876$ ), y mayor a la reportada por González-Barbosa (2021) para individuos provenientes de Uruguay ( $Hd=0,609$ ), Paraguay y Argentina ( $Hd=0,632$ ) utilizando, en todos los casos, el mismo fragmento de la región control del ADNmt.

## **7.2 Análisis filogeográficos**

El análisis filogenético realizado a partir de las muestras obtenidas en este trabajo en conjunto con las reportadas en trabajos anteriores (Figura 6), mostraron la existencia de dos grandes clados: uno más divergente perteneciente exclusivamente a las poblaciones de Paraguay; y otro conformado por haplotipos provenientes de poblaciones de Argentina y de Uruguay. Los análisis de estructuración bayesiana también evidenciaron clusters conformados de la misma manera.

La existencia de un cluster conformado por individuos situados al este de Paraguay diferenciado del resto de las poblaciones del Gran chaco paraguayo fue reportado también por Campos-Krauer y Wisely (2010); quienes propusieron que la existencia de un bosque seco tropical, con escasos cuerpos de agua permanentes pueden actuar como

barrera al flujo génico entre las poblaciones del este y las del resto de la región analizada. Por otro lado, los clusters genéticos conformados por haplotipos de Argentina y Uruguay, refuerzan la hipótesis de que el río Uruguay facilitaría el flujo génico entre las poblaciones de ambos países. Sin embargo, González-Barbosa (2021) determinó que existen en Uruguay haplotipos que no son compartidos con las poblaciones estudiadas de Argentina y si bien señala que, el río Uruguay no debería ser una barrera al flujo génico entre ambos países, otros factores del tipo comportamental e históricos podrían estar actuando.

Adicionalmente, la red de haplotipos a una escala geográfica mayor (escala regional) también evidencia la existencia de haplotipos compartidos entre Argentina, Uruguay y Paraguay sugiriendo nuevamente que los ríos Paraná, Paraguay y Uruguay actuarían como vías facilitadoras para la dispersión de los carpinchos.

### **7.2.1 Escala local**

La presencia de haplotipos compartidos entre los individuos localizados en la provincia de Buenos Aires y Entre Ríos, apoya parcialmente la hipótesis planteada en el trabajo. Para ambas provincias, los clusters genéticos encontrados, están compuestos por haplotipos estrechamente relacionados. A nivel local, las conexiones entre las poblaciones estarían dadas por los ríos Paraná y Paraguay, mientras que el Bajo Delta estaría actuando como conector entre ambas poblaciones. A pesar de ello, el test de AMOVA detectó diferencias genéticas significativas cuando las secuencias se agruparon en los grupos Buenos Aires, Entre Ríos y Bajo Delta (Tabla 6.7).

Estas diferencias genéticas halladas, podrían deberse a la falta de conexiones físicas entre las cuencas de los ríos Uruguay y Paraguay con los cuerpos de agua situados en el sur bonaerense (tributarios directos del Océano Atlántico). Estos últimos están constituidos por ríos y arroyos que discurren separados entre sí, y alejados de los que desembocan en la cuenca del Bajo Delta (Frenguelli, 1956). Otra posible explicación, es que las poblaciones muestreadas ubicadas en el sur bonaerense hayan colonizado el área desde otras cuencas en las que el carpincho habita, como por ejemplo la del río Salado, que tampoco presenta conexiones físicas con las que confluyen hacia el Bajo Delta. En este contexto, se considera necesario realizar nuevos estudios que incluyan un mayor número de individuos provenientes de poblaciones ubicadas en la cuenca antes mencionada, así como también, de los ríos Uruguay y Paraná para determinar con mayor certeza la procedencia de los individuos del sur bonaerense y sus posibles rutas de dispersión. Adicionalmente, estas diferencias halladas, pueden deberse al bajo número muestral que se utilizó, que podría estar sesgando los resultados, lo que refuerza la necesidad de aumentar el muestreo en las regiones estudiadas.

### **7.2.1 Escala regional**

A escala regional, los haplotipos compartidos entre poblaciones en conjunto con la ausencia de estructuración geográfica (espacial) de los clusters genéticos, apoya la hipótesis planteada en este trabajo, indicando que la especie presenta baja divergencia poblacional, debido a la presencia de una red hidrográfica que permitiría conectar dichas poblaciones. En trabajos previos, se ha demostrado que en la región mesopotámica argentina los haplotipos de diferentes poblaciones se encuentran interconectados (Byrne *et al.*, 2019).

Según Hughes *et al.* (2009), existen diferentes patrones espaciales de estructuración que fluctúan de acuerdo con el grado en el que el ambiente influye en el intercambio de individuos entre las poblaciones. En el caso de especies restringidas a ambientes acuáticos, como lo es el carpincho, es de esperar que la estructura espacial de la red hidrográfica sea el principal factor que explique los patrones espaciales hallados, dado que determina la distancia y conectividad entre las poblaciones. Byrne (2017), propone que la estructura de la red hidrográfica, tanto a escala regional como para cuencas menores en la región Chaco-pampeana, juega un rol importante en el modelado de la estructura genética poblacional.

Todos los análisis realizados a escala regional fueron congruentes con los datos reportados previamente por Campos-Krauer y Wisely (2010) y Byrne *et al.* (2019). En cuanto a la identificación de clusters genéticos (Figura 11), se distingue la presencia de un cluster exclusivo de la región litoral Este (cluster 2) donde se agrupan secuencias de Corrientes, Entre Ríos y Bajo Delta bonaerense en Argentina, y la gran mayoría de las secuencias provenientes de Uruguay, lo que podría indicar un flujo genético importante en la cuenca del Río Uruguay y las redes hídricas relacionadas a este río. También se han identificado dos clusters (clusters 4 y 5) exclusivos de Paraguay, que no comparten muestras con ninguna de las poblaciones de Argentina ni Uruguay. El cluster 1 predomina principalmente en Argentina y Paraguay, con poca representación dentro de las poblaciones provenientes de Uruguay, lo que puede indicar una diferenciación genética mayormente debida a la influencia de los ríos Paraná y Paraguay, en las que estarían actuando como barreras al flujo génico dado por la distancia entre éstos a lo largo de la distribución de la especie. Por otro lado, es importante destacar que, la población del Bajo Delta, ubicada en las cercanías de la confluencia entre las cuencas del Río Paraná y Uruguay, podría estar posibilitando el flujo génico entre las poblaciones de Buenos Aires y Entre Ríos.

Conforme lo planteado por Gonzalez-Barbosa (2021) y Byrne *et al.* (2019), la colonización del carpincho en la región mesopotámica de nuestro país podría haberse producido principalmente a través del Río Paraná, mientras que la expansión hacia Uruguay posiblemente se haya dado a través del Río Uruguay y su sistema de afluencias constituido por lagunas y ríos costeros. La presencia del haplotipo 1 (H1) desde Bahía Negra (Par) hasta Sierra de los Padres (BA) apoya la hipótesis del Río Paraná como corredor biológico, así como la presencia del haplotipo 3 (H3) desde Corrientes hasta el Bajo Delta bonaerense, con existencia en todas las poblaciones uruguayas estudiadas, sugiere que el Río Uruguay cumpliría la misma función.

Estudios previos indican que los carpinchos presentan un patrón de dispersión a escala local que parece depender de la densidad poblacional (Herrera *et al.*, 2011). A bajas densidades, la dispersión se produce en grupos mixtos que incluyen individuos de ambos sexos, mientras que, cuando la densidad poblacional es elevada, los machos muestran un comportamiento dispersivo, mientras que las hembras tienden a permanecer en su lugar de origen, mostrando filopatría. Esto es de gran importancia dado que, los niveles de diferenciación genética reportados en este trabajo, así como en todos los estudios existentes en la región, podrían estar sesgados por el uso de la región control mitocondrial como marcador, ya que se trata de un marcador molecular de herencia materna. Si bien se ratificó la eficacia de la región control mitocondrial como marcador para enriquecer la base de conocimiento actual, la inclusión de marcadores nucleares, como los microsatélites, en futuros estudios pueden aportar una mayor claridad en la comprensión de los factores biológicos, ecológicos y evolutivos que modelan los patrones de variabilidad genética observados para la especie.

### 7.3 Implicancias para la conservación

La identificación de unidades de manejo constituye un objetivo fundamental en conservación y gestión de la biodiversidad. Byrne (2017) propuso la existencia de dos unidades de manejo (UM) para el carpincho en Argentina: la población de Santa Fe por un lado y las poblaciones de Corrientes y Entre Ríos por el otro. Así como también, estableció la población del Bajo Delta como un nexo para el flujo génico entre distintas poblaciones. Por otra parte, González-Barbosa (2021), sugiere la posibilidad de considerar que las poblaciones de carpinchos en Uruguay pueden ser asignadas a una UM diferenciada en comparación con las de Argentina y Paraguay. Posteriormente, se identificó una Unidad Evolutivamente Significativa (ESU) *sensu* Moritz (1994) para las poblaciones de carpincho de la cuenca del Río de la Plata, dado que presentan monofilia recíproca con las poblaciones de Venezuela para la región control mitocondrial (Byrne *et al.*, 2022). Si bien en este trabajo no se realizaron análisis específicos para la estimación del flujo génico, nuestros resultados son congruentes con lo reportado por González-Barbosa (2021) y Byrne *et al.* (2022), ya que se observaron diferencias entre los agrupamientos genéticos por clusters de Argentina y Uruguay en relación a lo hallado para las secuencias provenientes de Paraguay; así como una región de haplotipos compartidos en el centro de nuestro país. Sin embargo, se sugiere realizar análisis más exhaustivos a futuro, que permitan evaluar las tasas de dispersión y flujo génico, teniendo en cuenta un mayor número de muestras para las poblaciones situadas en la cuenca del Río Uruguay.

**CONCLUSIONES Y**  
**CONSIDERACIONES**  
**FINALES**

Los resultados obtenidos nos permiten ampliar el conocimiento sobre la variabilidad genética existente en las poblaciones de *Hydrochoerus hydrochaeris* de la región central de Argentina, que hasta el momento no había sido estudiado en profundidad en la provincia de Buenos Aires y se contaba con pocos estudios en el centro-este y sur de Entre Ríos.

Este estudio valida el empleo de la región control mitocondrial como un marcador molecular eficiente en investigaciones genéticas enfocadas en poblaciones de carpincho. Además, se ha confirmado que la presencia de conexiones entre ciertas poblaciones provenientes de Paraguay y de Argentina, sugieren que el Río Paraná está actuando como corredor biológico, mientras que las relaciones entre las poblaciones de Argentina y Uruguay indican lo mismo para el Río Uruguay.

Este trabajo marca un precedente en el estudio de la especie en el sur de su distribución, dando lugar a nuevos interrogantes que pueden ser respondidos realizando un análisis más exhaustivo y de mayor muestreo en las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos.



# **BIBLIOGRAFÍA**

- Abràmoff, M. D., Magalhães, P. J., & Ram, S. J. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics international*, 11(7), 36-42.
- Adámoli, J., Sennhauser, E., Astrada, E., & Agraz, J. L. (1988). Propuesta para la delimitación del área geográfica potencial de los carpinchos en Argentina. *Consejo Federal de Inversiones*, Buenos Aires, 1-88
- Aljanabi, S. M., & Martinez, I. (1997). Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic acids research*, 25(22), 4692-4693.
- Allekotte, R. (2003). Cría del carpincho en cautiverio. *Revista IDIA XXI* (Argentina).
- Ángel-Escobar, D. C. & Aldana-Domínguez, J. (2007). Estructura de las poblaciones del chigüiro (Rodentia: *Hydrochoerus hydrochaeris*) en el departamento del Casanare, Colombia. En: Aldana-Domínguez, J., Vieira-Muñoz, M. I. & Ángel-Escobar, D. C (Eds), *Estudios sobre la ecología del chigüiro (Hydrochoerus hydrochaeris): enfocados a su manejo y uso sostenible en Colombia*, Instituto Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá D.C.
- Atlas de cuencas y regiones hídricas - ambientales de la provincia de Buenos Aires. Ministerio de Infraestructura y Servicios Públicos de la provincia de Buenos Aires. Extraído el 6 de Agosto de 2023 de <https://www.minfra.gba.gov.ar/web/Hidraulica/Atlas.pdf>
- Arif, I. A. & Khan, H. A. (2009). Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal biodiversity and conservation*, 32(1), 9-17
- Bandelt, H. J., Foster, P., & Rohlf, A. (1999). Median Joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16:37-48.
- Barreto, G. R., & Quintana, R. D. (2013). Foraging strategies and feeding habits of capybaras. In *Capybara* (pp. 83-96). Springer, New York, NY
- Bolkovic, M. L., Quintana, R. D., Ramadori, D., Elisetch, M., & Rabinovich, J. (2006). Proyecto carpincho. Manejo de fauna silvestre en Argentina. Programa de uso sustentable. Dirección de Fauna Silvestre, Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires, 105-119.
- Bolkovic, M. L., Quintana, R., Cirignoli, S., Perovic, P. G., Eberhardt, A., Byrne, S., Bareiro, R. & Porini, G. (2019). *Hydrochoerus hydrochaeris*. En: SAyDS–SAREM (eds.) Categorización 2019 de los mamíferos de Argentina según su riesgo de extinción. *Lista Roja de mamíferos de Argentina*.
- Borges-Landáez, P.A., Perdomo, G. & Herrera, E.A., (2012). Estructura y diversidad genética en poblaciones manejadas de Chiguire en los Llanos Venezolanos. *Interciencia* 37, 227–233
- Byrne, M. S. (2017). Caracterización genética, filogeografía y patrones de aptitud de hábitat en el carpincho, *Hydrochoerus hydrochaeris*, a distintas escalas ecológicas

(*Doctoral dissertation*, Universidad Nacional de Luján).

Byrne, M. S., Quintana, R. D., Bolkovic, M. L., Cassini, M. H., & Túnez, J. I. (2015). The role of river drainages in shaping the genetic structure of capybara populations. *Genética*, 143(6), 645-656.

Byrne, S., Quintana, R. D., Bolkovic, M. L., & Túnez, J. I. (2019). Population genetics of the capybara, *Hydrochoerus hydrochaeris*, in the Chaco-pampean region. *Mammalian Biology*, 96(1), 14-22.

Byrne, M. S., Ruiz-García, M., & Túnez, J. I. (2022). Phylogeography of the capybara, *Hydrochoerus hydrochaeris*, in a large portion of its distribution area in South America. *Journal of Mammalian Evolution*, 29(1), 191-206.

Campos-Krauer, J. M., & Wisely, S. M. (2010). Deforestation and cattle ranching drive rapid range expansion of capybara in the Gran Chaco ecosystem. *Global Change Biology*, 17(1), 206-218.

Carleton, M.D. & Musser, G.G. (2005). Order Rodentia. En: *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic reference*. Wilson DE, Reeder DM, editor. Baltimore: Johns Hopkins University Press. Order Rodentia; pp. 745–752

Congdon, P. (2007). Bayesian statistical modelling (Vol. 704). John Wiley & Sons.

Corander, J., Marttinen, P., Sirén, J., & Tang, J. (2013). BAPS: Bayesian analysis of population structure. *Department of Mathematics and statistics University of Helsinki*, 14.

Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R. & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*, 9(8), 772-772

D'Elía, G., Fabre, P. H. & Lessa, E. P. (2019). Rodent systematics in an age of discovery: recent advances and prospects. *Journal of Mammalogy*, 100(3), 852-871

Dirección de Fauna Silvestre y Conservación de la Biodiversidad, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable. *Ficha Carpincho*. Extraído el 23 de Mayo de 2022. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/ficha-carpincho72.pdf>

Domínguez-Domínguez, O. & Vázquez-Domínguez, E. (2009). Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Animal biodiversity and conservation*, 32(1), 59-70.

Doumecq Milieu, R. E., Morici, A. & Nigro, N. A. (2012). Ampliación de la distribución austral del carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Nótulas Faunísticas*, Segunda Serie, 92:1–10.

Drummond, A. J. & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7:214.

Excoffier, L., & Ray, N. (2008). Surfing during population expansions promotes genetic revolutions and structuration. *Trends in ecology & evolution*, 23(7), 347-351.

- Excoffier, L., & Yang, Z. (1999). Substitution rate variation among sites in mitochondrial hypervariable region I of humans and chimpanzees. *Molecular biology and evolution*, 16(10), 1357-1368.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., & Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.
- Fao (2007). El capibara o carpincho (*Hydrochoerus hydrochaeris*), estado actual de su producción. Departamento de Agricultura. Extraído el 4 de Agosto de 2023 de [https://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_carpinchos/41-fao.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_carpinchos/41-fao.pdf)
- Ferraz, K. M. P. M. B., Lechevalier, M. A., Couto, H. T. Z. D. & Verdade, L. M. (2003). Damage caused by capybaras in a corn field. *Scientia Agricola*, 60(1), 191-194.
- Ferraz, K. M. P. M. B., Ferraz, S. F. B., Moreira, J. R., Couto, H. T. Z. & Verdade, L. M. (2007). Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) distribution in agroecosystems: A cross-scale habitat analysis. *Journal of Biogeography*, 34(2), 223-230.
- Ferraz, K. M. P. M. B., Peterson, A. T., Scachetti-Pereira, R., Vettorazzi, C. A. & Verdade, L. M. (2009). Distribution of capybaras in an agroecosystem, Southeastern Brazil, based on ecological niche modeling. *Journal of Mammalogy*, 90(1), 189-194.
- Frenquelli, J. (1956). Rasgos generales de la hidrografía de la provincia de Buenos Aires. Provincia de Buenos Aires, Ministerio de Obras Públicas, Laboratorio de Ensayo de Materiales e Investigaciones Tecnológicas.
- Garrido-Garduño, T., & Vázquez-Domínguez, E. (2013). Métodos de análisis genéticos, espaciales y de conectividad en genética del paisaje. *Revista mexicana de biodiversidad*, 84(3), 1031-1054.
- González-Barbosa, M. (2021). *Patrones filogeográficos de Hydrochoerus hydrochaeris (Linnaeus, 1766) en el sur de su distribución, utilizando marcadores mitocondriales*. [Tesis de grado no publicada]. Facultad de Ciencias, Universidad de la República Uruguay.
- González Jiménez, E. (1995). El capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) Estado actual de su producción. El capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) Estado actual de su producción. Extraído el 18 de noviembre de 2022 de <https://www.fao.org/3/v4590s/v4590S01.htm>
- Hall T. (2004). BioEdit 6.0.7. Department of Microbiology, North Carolina State University. de <http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>.
- Hasegawa, M., Kishino, H. & Yano, T. A. (1985). Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of molecular evolution*, 22(2), 160-174.
- Hasegawa, M., Di Rienzo, A., Kocher, T. D., & Wilson, A. C. (1993). Toward a more accurate time scale for the human mitochondrial DNA tree. *Journal of molecular evolution*, 37, 347-354.

- Herrera, E. A. (1992). The effect of harvesting on the age structure and body size of a capybara population. *Ecotropicos*, 5(1), 20-25.
- Herrera, E. A. (2013). Capybara social behavior and use of space: patterns and processes. In *Capybara* (pp. 195-207). Springer, New York, NY.
- Herrera, E.A., Macdonald, D.W., (1989). Resource utilization and territoriality in group-living Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Journal of Animal Ecology*. 58, 667–679.
- Herrera, E. A., Salas, V., Congdon, E. R., Corriale, M. J., & Tang-Martínez, Z. (2011). Capybara social structure and dispersal patterns: variations on a theme. *Journal of Mammalogy*, 92(1),12-20.
- Honeycutt, R. L. (2013). Phylogenetics of caviomorph rodents and genetic perspectives on the evolution of sociality and mating systems in the Caviidae. *Capybara: biology, use and conservation of an exceptional neotropical species*, 61-81.
- Hughes, J.M., Schmidt, D.J. & Finn, D.S. (2009). Genes in streams: using DNA to understand the movement of freshwater fauna and their riverine habitat. *Bioscience*. 59:573–583
- Kohn, M. H. & Wayne, R. K. (1997). Facts from feces revisited. *Trends in Ecology & Evolution*, 12(6), 223-227.
- Lanteri, A. & Confalonieri, V., (2003). Filogeografía:objetivos, métodos y ejemplos. In: Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía: 185–194 (J. J. Morrone & J. Llorente, Eds.). CONABIO, México.
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), 1110-1116.
- López-Barbella, S. (1987). Consideraciones generales sobre la gestación del chigüire (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Acta Científica Venezolana*, 38, 84-89.
- Maldonado-Chaparro, A. & Blumstein, D. T. (2008). Management implications of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) social behavior. *Biological Conservation*, 141(8), 1945- 1952.
- Matteucci, S. (2012). Ecorregión pampa. Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos, 391-446.
- Medrano, J.F., Aasen, E. & Sharrow, L. (1990). DNA extraction from nucleated red blood cells. *Biotechniques*, 8(1):43.
- Méndez, M., Rosenbaum, H.C. & Subramaniam, A (2010). Isolation by environmental distance in mobile marine species: molecular ecology of franciscana dolphins at their southern range. *Molecular Ecology*. 19:2212–2228.
- Mones, A. & Ojasti, J. (1986). *Hydrochoerus hydrochaeris*. *Mammalian Species*, (264), 1-7

Moreira, J.R., Alvarez, M.R., Tarifa, T., Pacheco, V., Taber, A., Tirira, D.G., Herrera, E.A., Ferraz, K.M.P.M.B., Aldana-Domínguez, J. & Macdonald, D.W. (2012) Taxonomy, natural history and distribution of the capybara. In *Capybara* (pp.3–37) Springer, New York, NY.

Moreira, J. R., Alvarez, M. R., Tarifa, T., Pacheco, V., Taber, A., Tirira, D. G., Herrera, E. A., Ferraz, K.M.P.B.M., Aldana-Domínguez, J. & Macdonald, D. W. (2013b). Taxonomy, natural history and distribution of the capybara. Springer, New York, NY.

Moreira, J. R., & Macdonald, D. W. (1996). Capybara use and conservation in South America. In The exploitation of mammal populations (pp. 88-101). Dordrecht: Springer Netherlands.

Moritz, C. (1994) Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 373–375.

Ojasti, J. (1973). Estudio biológico del chigüire o capibara. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Caracas.

Ojeda, A.A., Novillo, A. Ojeda, R.A. & Roig-Juñent, S.A. (2013) Geographical distribution and diversification in South American octodontid rodents (Rodentia, Caviomorpha). *Journal of Zoology* 289, 285–93

Ojeda, R.A., Novillo, A. & Ojeda, A.A. (2015) Large-scale richness patterns, biogeography and ecological diversification in caviomorph rodents. In: Biology of Caviomorph Rodents: Diversity and Distribution. (Vasallo, A. & Antenucci, D. eds.) *Argentine Mammal Society (SAREM), Serie A Volume 1*, Buenos Aires, Argentina.

Ojeda, R. A., Ojeda, A. A., & A. Novillo. (2016). The caviomorph rodents: distribution and ecological diversification. Pp. 1–27 in *Sociobiology of Caviomorph Rodents: An Integrative Approach* (L. A. Ebensperger and L. D. Hayes, eds.). Wiley Blackwell. Chichester, United Kingdom.

Palsbøll PJ, Bérube M, Fred W, Allendorf FW (2007). Identification of management units using population genetic data. *Trends in Ecology & Evolution*. 22(1): 11-16.

Perdomo, G. (2005). Estructura genética en tres poblaciones de chigüires (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de los llanos venezolanos. Tesis de licenciatura, Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela.

Perdomo Martinez GD, Borges Landaez PA, Herrera EA (2007). Comparison of three sources of DNA sequences in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*): feces, tissue preserved in ethanol and salted tissue. *Unpublished*, NCBI, GeneBank: EU149773, EU149776.

Pisano, M. F. & Pommarés, N. N. (2017). Región Chaco Pampeana: Depósitos fluvio lacustres. Repositorio (pp110-129) Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

- Quintana, R.D., (1999). Relationship between a wetland landscape structure and wildlife: the capybara (*Hydrochoeris Hydrochoeris*) as a study case. In: Malvarez, A.I. (Ed.), *Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica. ORCyT-MAB/ UNESCO*, Montevideo, pp.185–204.
- Quintana, R. D., & Bolkovic, M. L. (2013). Use of capybaras in Argentina. In *Capybara* (pp.345-356). *Springer*, New York, NY.
- Quintana, R. D., Madanes, N., Malvárez, A. I., Kalesnik, F. A., & Cagnoni, M. (2005). Análisis de la vegetación en tres tipos de hábitat de Carpinchos en la baja cuenca del Río Paraná, Argentina. *Miscelánea*, 14, 183-200.
- Resolución 1030 de 2004 [Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable]. Por la cual se establecen los nuevos índices de calificación de las especies de Anfibios, Reptiles y Mamíferos autóctonos de acuerdo a lo establecido en el artículo 4° del Decreto N° 666/97. 29 de Diciembre de 2004. Extraído de <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/100000-104999/102826/norma.htm> el 23 de Mayo de 2022.
- Rowe, D. L., & Honeycutt, R. L. (2002). Phylogenetic relationships, ecological correlates, and molecular evolution within the Cavoioidea (Mammalia, Rodentia). *Molecular Biology and Evolution*, 19(3), 263-277.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, 34(12), 3299-3302.
- Ruíz-García, M., Luengas-Villamil, K., Pinedo-Castro, M., Leal, L., Bernal-Parra, L.M. & Shostell, J.M. (2016). Continuous Miocene, Pliocene and Pleistocene influences on mitochondrial diversification of the Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*; Hydrochoeridae, Rodentia): incapacity to determine exclusive hypotheses on the origins of the Amazon and Orinoco diversity for this species. *Journal of Phylogenetics and Evolutionary Biology*. 4 (2), 1–20.
- Saccone, C., Pesole, G. & Sbisà, E. (1991). The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: structure-function model and evolutionary pattern. *Journal of Molecular Evolution*, 33(1), 83-91
- Salas, V. (1999). Social organization of capybaras in the Venezuelan Llanos (*Doctoral dissertation, University of Cambridge*).
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). *Cold spring harbor laboratory press*.
- Sarango, V. (2011, Febrero). Manual Capibara. *MANUAL PARA MANEJO DE CAPIBARAS (HIDROCHAERIS HIDROCHAERIS)*. Extraído el 28 de Junio de 2023, de <https://www.fao.org/climatechange/34141-0647a3f33cc0ab8d6a898a53133d8085e.pdf>

- Schivo, F., Kandus, P., Bolkovic, M.L., Gail Minotti, P., González Trilla, G., & Quintana, R.D., (2015). A habitat suitability model for capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) at its core area in Argentina. *Tropical Conservation Science*. 8, 150–168.
- Schwarz, G. (1978). Estimating the dimension of a model. 2(2), 461-464
- Sica, Y. V., Quintana, R. D., Radeloff, V. C., & Gavier-Pizarro, G. I. (2016). Wetland loss due to and use change in the Lower Paraná River Delta, Argentina. *Science of the Total Environment*, 568, 967-978.
- Silva, A., Artiles, A., Suárez, W., & Silva, G. (2011). Sequence and structure of the mitochondrial control region of the Cuban rodent *Capromys pilorides* (Rodentia: Capromyidae). *Bioteconología Aplicada*, 28(3), 136-141.
- Taberlet, P. (1996). The use of mitochondrial DNA control region sequencing in conservation genetics. *Molecular Genetic Approaches in Conservation*. Oxford University Press, New York, 125-142.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11.0 *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Upham, N. S., & Patterson, B. D. (2012). Diversification and biogeography of the Neotropical caviomorph lineage Octodontoidea (Rodentia: Hystricognathi). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63(2), 417-429.
- Upham, N. S. & Patterson, B. D. (2015). *Evolution of caviomorph rodents: a complete phylogeny and timetree for living genera*. En: Vassallo & Daniel Antenucci (Eds.) *Biology of caviomorph rodents: diversity and evolution*. SAREM Series A, Buenos Aires, 63-120.
- Verde Arregoitia, L. D., Teta, P. & D'Elía, G. (2020). Patterns in research and data sharing for the study of form and function in caviomorph rodents. *Journal of Mammalogy*, 101(2), 604-612.
- Volobouev V. T., Gallardo, M. H. & Graphodatsky, A. S. (2006). Order Rodentia. En: O'Brien, S. J., Menninger, J. C. & Nash, W. G. (Eds.), *Atlas of mammalian chromosomes*. John Wiley & Sons, Nueva Jersey, 173-176
- Vucetich, M. G., Deschamps, C. M., & Pérez, M. E. (2013). Paleontology, evolution and systematics of capybara. *Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species*, 39-59.
- Werle, E., Schneider, C., Renner, M., Völker, M. & Fiehn, W. (1994). Convenient single-step, one tube purification of PCR products for direct sequencing. *Nucleic Acids Research*. 22, 4354–4355
- Yornet, M. G., De Bargas, S. E., & González, O. M. (2016). Evaluación de la factibilidad económica de la producción de carpinchos en cautiverio en Argentina. *Agronomía & Ambiente*, 36(2).



# **ANEXOS**

ANEXO I

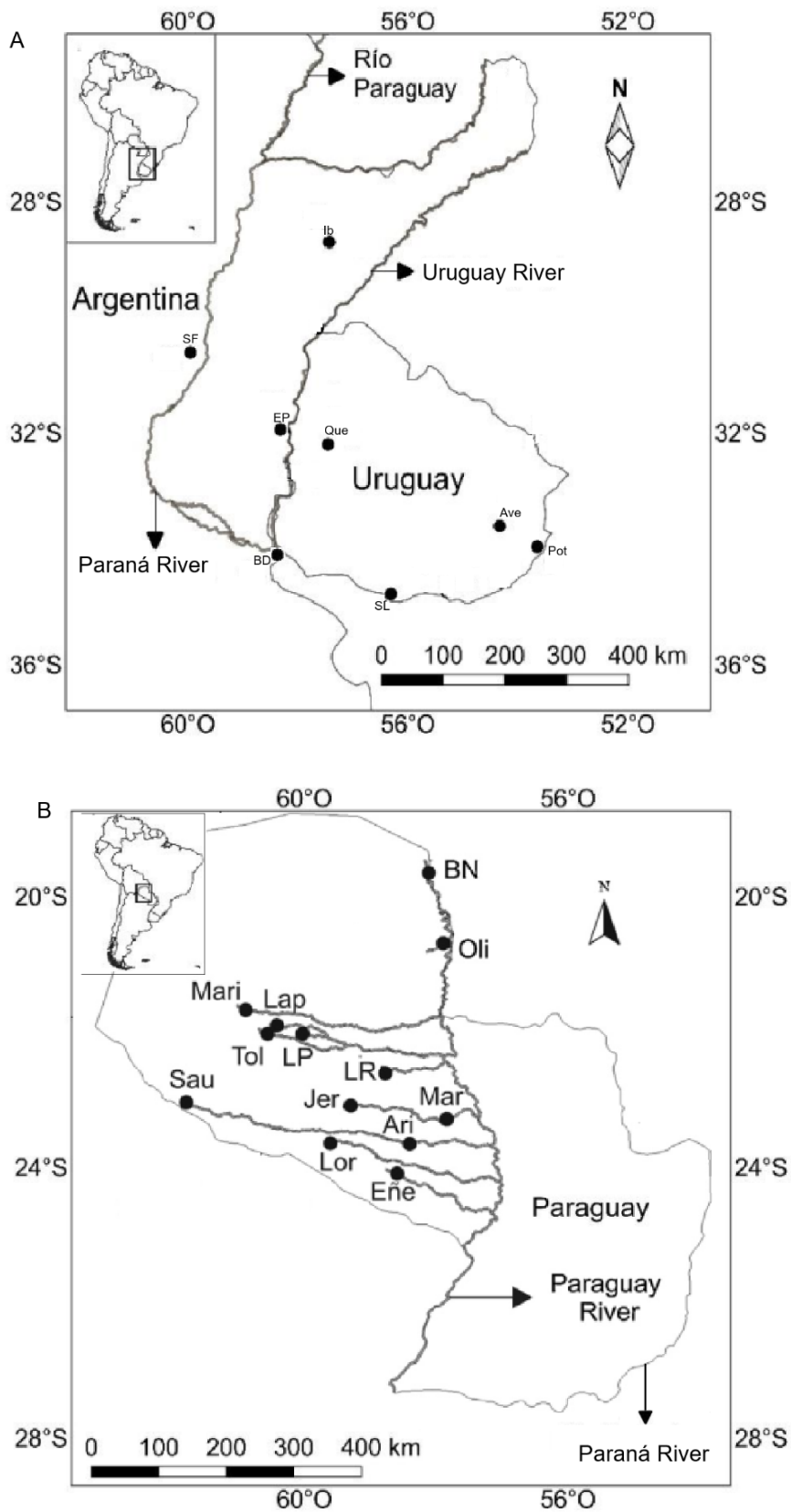


Figura 1. Mapa que muestra la ubicación de los sitios de muestreo de carpincho en Argentina y Uruguay (A) y Paraguay (B) de los trabajos de Campos-Krauer y Wisely (2010), Byrne *et al.* (2019) y González-Barboza (2021). Modificado de González-Barboza (2021).





### ANEXO III

Tabla 1. Comparación entre los haplotipos encontrados en este trabajo en relación a los reportados en trabajos previos (Campos-Krauer y Wisely, 2010; Byrne *et al.*, 2019; González-Barbosa, 2021). Se indica la cantidad de secuencias con las que se contó.

HAPLOTIPOS	ID propio	H1	H2	H3	H6	H4	H5	H12	H7	H14	H8	H9	H11	H10	H13	H15	H16	H17	H18	Total (Nseq)	
	ID Byrne <i>et al.</i> , 2019	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N						
Este trabajo	PI	2																		2	
	CS		1																		1
	GER	1																			1
	CLS			2																	2
	CSM	1																			1
	PEL	1																			1
	ESS	1																			1
	AYA	1																			1
	CAMBA	1																			1
	VE																			1	1
	EEP						1														1
	BDER		3																		3
	RAN	1																			1
	PER	1																			1

	MER	1																		1
	HUN	2																		2
	LLP	4	1																	5
	AGC	1																		1
	BDBS					1														1
González- Barbosa (2021)	QGY			2		5														7
	POT			2																2
	VS		4	2																6
	STO		1																	1
	SL			5																5
	MDO			1		1								4						6
	ROC					1														1
	FAR			3		1												2		6
	PC															1				1
	FDA			2																2
	FLO			1																1
	RF			1																1
	LROC			2																2
AVE			5		1														6	
	IBE	8	2	9	1															20

Byrne <i>et al.</i> (2019)	SF	10																		10
	EP		1	3																4
	BD	11	2	1		2	1													17
Campos- Krauer & Wisely (2010)	TOL	7						3		3										13
	MARI	3																		3
	LAP							5												5
	LP	5						5												10
	LR							3						1						4
	JER	8																		8
	ARI	4						6												10
	MAR	6																		6
	EÑE	8																		8
	LOR	3						8												11
	SAU	1						10												11
	OLI	2						1	9											12
	BN	1							2		3	1	1	1						9