

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Título de la Tesis:

**“Distribución Potencial y Estructuración Genética en
tucu-tucos del sudeste bonaerense”**



Doctorando: Lic. Ailin Austrich

Director: Dr. Matías Sebastián Mora

Mar del Plata

Marzo, 2021

Elegimos nuestro mundo venidero mediante lo que hemos aprendido en éste.

*No aprendas nada, y el próximo mundo será igual que éste,
con las mismas limitaciones y pesos de plomo que superar.*

(Richard D. Bach, Juan Salvador Gaviota)

Índice

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
CAPÍTULO I: Cambios en el paisaje e incremento de la fragmentación en los hábitats de dunas costeras durante los últimos 30 años en la provincia de Buenos Aires, Argentina.....	7
CAPÍTULO II: Redefiniendo la distribución geográfica de las especies de tuco-tucos en la costa bonaerense a partir de ADN mitocondrial	42
CAPÍTULO III: Modelos de distribución potencial de tres especies endémicas de tuco-tucos de Argentina: ¿Qué variables ambientales presentan un mejor rendimiento en especies altamente especializadas?.....	89
CAPÍTULO IV: Influencia de las características del paisaje y las barreras históricas sobre la estructura genética poblacional del roedor subterráneo <i>Ctenomys australis</i>	145
CONCLUSIONES GENERALES.....	196
AGRADECIMIENTOS.....	200
BIBLIOGRAFÍA.....	201

RESÚMEN

Los tuco-tucos presentan un conjunto de rasgos ecológicos y de historia de vida que los posicionan como excelentes modelos para llevar a cabo estudios relacionados a la filogenia y genética poblacional, así como a modelados de distribución potencial. Las especies de estos roedores subterráneos son el resultado de una rápida radiación adaptativa, dando lugar a más de 70 especies distribuidas en el sur de Sudamérica, desde el altiplano peruano hasta Tierra del Fuego en Argentina (Bidau 2015; Freitas 2016). Han logrado una exitosa colonización del nicho subterráneo, ocupando una gran diversidad de hábitats desde el nivel del mar hasta una elevación de casi 5000 m (Bidau 2015). De hecho, varias particularidades presentes en los tuco-tucos están relacionadas a esta gran variedad de hábitats en los cuales se han especializado, desde el punto de vista morfológico, fisiológico y comportamental (Bidau 2015). Debido a esta especialización de hábitat, es que suelen presentar distribuciones fragmentadas (en parches), con poblaciones generalmente aisladas entre sí, y una limitada capacidad dispersiva como una de sus principales cualidades (Reig et al. 1990; Steinberg y Patton 2000).

En base a las características mencionadas, es que en los siguientes capítulos de esta tesis se caracteriza, en primer lugar, el área de estudio a partir de un análisis multitemporal para evaluar los niveles de fragmentación de hábitats naturales sobre ambas barreras medanosas bonaerenses (Austral y Oriental). Los resultados principales de este estudio mostraron distintos niveles de fragmentación antrópica en ambas regiones costeras, siendo la barrera medanosa Oriental la que presentó un mayor desarrollo antrópico. A pesar de esta notoria diferencia entre las barreras medanosas, se reveló en ambas un incremento gradual y sostenido durante las últimas tres décadas de las áreas antropizadas, dando como resultado la pérdida de hábitats naturales. A continuación, se llevó a cabo un análisis filogenético para dilucidar las relaciones entre especímenes de *C. talarum* y especímenes originalmente asignados a esta última especie, debido a su similitud fenotípica, los cuales se ubican en un sector específico de la costa sur bonaerense. Hay evidencia que sugiere que los individuos localizados en esta área, presentan una gran distancia genética con respecto a otras poblaciones de *C. talarum*, siendo, posiblemente, una nueva especie de *Ctenomys*. A partir del uso de marcadores moleculares de ADN mitocondrial, se evidenció la existencia de un linaje distintivo, el cual presentó monofilía recíproca respecto de *C. talarum*. Esto permitió esclarecer la presencia de una tercera especie en las barreras medanosas bonaerenses (*Ctenomys* sp.). Estos

resultados también permitieron clarificar los límites de distribución para cada especie de tuco-tuco que habita la barrera medanosa Austral. Otro de los análisis llevados a cabo en esta tesis, es el modelado de las distribuciones potenciales para las tres especies de *Ctenomys* que habitan las barreras medanosas bonaerenses. Para su realización, se abordaron dos estrategias distintas para la selección de las variables ambientales. Por un lado, se usaron variables bioclimáticas, con su resolución original (~1km); y por otro lado, se usó un conjunto de bandas Landsat y capas granulométricas, las cuales se emplearon a resoluciones moderadas (250 y 500 m). El segundo grupo de variables mostró una mejor performance a la hora de inferir las distribuciones potenciales de los tuco-tucos, siendo aquellas relacionadas con las características del suelo y la cobertura vegetal, las que permitieron predecir mejor la idoneidad del hábitat. También se evaluó el nivel de superposición de nichos entre pares de especies, encontrándose que solo *C. australis* y *Ctenomys* sp. presentaron nichos ecológicamente similares. Por último, a partir del uso de marcadores de microsatélites, y sobre el rango completo de distribución de *C. australis*, se evaluó sus patrones de dispersión y la estructura poblacional. Los resultados principales evidenciaron una fuerte estructuración genética entre las poblaciones, con bajas tasas de flujo génico entre ellas. La diferenciación genética encontrada entre las poblaciones fue consistente con un patrón de aislamiento por distancia, aunque también se debe, en parte, por la presencia de barreras naturales en el ambiente habitado por la especie. La disponibilidad de hábitats de dunas de arena fue el principal factor en explicar este patrón de diferenciación genética entre las poblaciones de *C. australis*.

Así, a partir de los resultados obtenidos en los capítulos de esta tesis, se pudo lograr una completa caracterización del ambiente de dunas habitado por las distintas especies de tuco-tucos, así como una mejor comprensión de sus distribuciones desde el punto de vista geográfico y ambiental. También, se halló la presencia de una tercera especie de *Ctenomys* en la barrera medanosa bonaerense, la cual presenta una distribución sumamente restringida. Finalmente, y solo para *C. australis*, se evaluó en profundidad el grado de estructuración genética presente en sus poblaciones, sugiriendo que la misma se encuentra en alto riesgo de preservación.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La pérdida y fragmentación de los hábitats naturales tienen profundas consecuencias a nivel del paisaje (Laaksonen et al. 2008), y sus efectos combinados implican tanto una reducción en la superficie total de hábitat, como una disminución en la conectividad entre los fragmentos remanentes (Saunders et al. 1991). En la genética de poblaciones resulta fundamental conocer los aspectos propios de los ambientes naturales, permitiendo así una mejor comprensión y análisis de la variabilidad genética presente en las poblaciones. Generalmente, los procesos que conllevan a la degradación y fragmentación de los ambientes naturales, en conjunto con la disminución de la calidad de la matriz de hábitat, pueden conducir a una rápida declinación tanto en los tamaños poblacionales como en la diversidad genética de los grupos de individuos dentro de los fragmentos de hábitat (Craul et al. 2009). La subdivisión, el aislamiento y la pérdida de conectividad entre poblaciones, se asocia a una disminución en el éxito de dispersión y en la tasa de colonización de parches, resultando en una declinación de la persistencia de las poblaciones a nivel local y en un aumento de la probabilidad de extinciones a nivel regional (With y King 1999; Kindlmann y Burel 2008). El conocimiento de la distribución espacial de los ambientes naturales no sólo es importante para comprender los niveles de estructuración genética en las poblaciones, sino también para identificar las principales variables ambientales involucradas en dicha configuración. Muchas de las preguntas que se plantea la Ecología de Poblaciones y la Biogeografía, por ejemplo, se basan en la posibilidad de disponer de información respecto a las variables ambientales particulares de una región, para así conocer y modelar la distribución de las especies que allí habitan (Peterson et al. 1999).

Esta Tesis se enmarca, por un lado, en la Genética de Poblaciones y la Ecología Molecular, disciplinas que nos ayudan a entender aspectos del comportamiento de dispersión y de la delimitación de poblaciones naturales, contribuyendo a la comprensión de cómo los diferentes elementos del paisaje interactúan con el comportamiento de los individuos en función de limitar o promover el flujo génico y la diferenciación poblacional (Kittlein y Gaggiotti 2008; Mapelli et al. 2012). Por otro lado, también se realizan evaluaciones de los cambios en los ambientes costeros cuantificando su grado de fragmentación en distintos tipos de configuración del paisaje, y se desarrolla el Modelado de Nicho Ecológico para tres especies en estudio. Así, se generan predicciones sobre la

distribución potencial de las especies, estableciendo las características del paisaje que podrían funcionar como barreras al flujo génico en las especies en estudio.

Las especies de roedores subterráneas del género *Ctenomys* (tuco-tucos) habitan el sector sur sudamericano, incluyendo Bolivia, Brasil, Perú, Uruguay, Paraguay, Chile, y Argentina, siendo uno de los géneros de mamíferos que presentan mayor amplitud de distribución geográfica y que mantienen actualmente alrededor de 70 especies reconocidas (Bidau 2015; Freitas 2016; Teta and D'Elía 2020; Teta et al. 2020). Los tuco-tucos tienden a ocupar parches de hábitats donde la dureza y granulometría del suelo proveen las condiciones propicias para la excavación (Antinuchi y Busch 1992; Busch et al. 2000). Las especies de mayor tamaño corporal están asociadas, generalmente, a suelos menos compactos, mientras que las especies de menor tamaño lo están a suelos más duros (Busch et al. 1989; Malizia et al. 1991; Vassallo 1998). La mayoría de las actividades de las especies del género se encuentran restringidas a los sistemas de túneles subterráneos, aunque suelen realizar excursiones muy breves sobre la superficie con fines de alimentación y obtención de material vegetal para construir sus nidos (Comparatore et al. 1995; Zenuto y Busch 1995). Todas estas características revelan la alta especialización de los tuco-tucos en el uso de hábitat, posicionándolos como excelentes modelos para el uso de enfoques metodológicos basados en las estimaciones de los modelos de distribución potencial.

En relación a su comportamiento, la gran mayoría de las especies de tuco-tucos son solitarias (Lacey et al. 1998; Busch et al. 2000), aunque existen algunos casos en los que se ha reportado cuevas compartidas. Se puede mencionar a *C. sociabilis* como una especie que presenta un sistema social complejo (Lacey et al. 1997; Lacey 2000).

En base a todo lo mencionado, y debido a sus características demográficas (bajas tasas de dispersión, distribución en parches y bajos tamaños efectivos poblacionales), las especies de *Ctenomys* constituyen excelentes modelos de estudio para poner a prueba hipótesis relacionadas al impacto de la fragmentación de los hábitats sobre su estructura genético-poblacional.

En el sector costero del sudeste bonaerense se pueden encontrar dos especies de este género con serios problemas de conservación, *Ctenomys australis* y *Ctenomys talarum*; también se encuentra una entidad que probablemente constituye una tercera especie del género sobre la costa bonaerense, *Ctenomys* sp. A una escala espacial regional, estas especies se distribuyen de forma parapátrica y simpátrica en gran parte del sector costero comprendido entre Necochea (38°37'S, 58°50'O) y Bahía Blanca

(39°30'S, 61°40'O; Contreras y Reig 1965; Apfelbaum et al. 1991; Mora et al. 2007; Austrich et al. 2017). Estas especies presentan diferencias marcadas en sus tamaños corporales, lo cual está muy relacionado con sus preferencias de hábitat. *C. australis* (tuco-tuco de las dunas), con un peso corporal promedio de 400 g, se encuentra restringido principalmente a la primera franja de dunas costeras, caracterizada por substratos arenosos y poco compactos, con escaso o nulo desarrollo del suelo y con cobertura vegetal relativamente escasa (Vassallo et al. 1994; Zenuto y Busch 1998; Kittlein et al. 2004; Cutrera et al. 2010). Su zona de distribución costera abarca desde la ciudad de Necochea hasta pocos km al oeste de Pehuen C6 (39°0'S, 61°36'O). En contraste, *C. talarum* (tuco-tuco de los Talas), con un peso corporal promedio de 130 g, habita generalmente la segunda y tercer franja de dunas costeras de la provincia de Buenos Aires, caracterizadas por presentar suelos más compactos, húmedos y con mayor cobertura vegetal. Además, esta especie se distribuye en ciertas áreas alejadas de la costa, en el continente, que son consideradas poblaciones relictuales de una distribución histórica más amplia que la actual (Malizia et al. 1991; Vassallo 1993, 1998; Mora et al. 2013). Por lo tanto, *C. talarum* resulta ser una especie más generalista en el uso de hábitat (Mora et al. 2007). Sobre el sector costero del sudeste bonaerense, donde coexisten las tres especies, *C. talarum* presenta una distribución disyunta, la cual abarca desde Necochea (38°37'S, 58°50'O) hasta el Río Quequén Salado (38°54'S, 60°30'O), reapareciendo al este de la localidad de Punta Alta (38°55'S, 62°2'O) hasta Bahía Blanca (39°30'S, 61°40'O), donde remonta por los Arroyos Napostá Grande (38°45'S, 62°14'O) y Sauce Chico (38°20'S, 62°35'O; Mora et al. 2007), y tendría algún tipo de conexión histórica con enclaves en Sierra de la Ventana. Por último, una nueva entidad taxonómica aún no descripta, *Ctenomys* sp., con un peso promedio de 150 g, fue sugerida recientemente como una tercera especie de tuco-tuco presente en la costa sur bonaerense (anteriormente solo se consideraba la presencia de *C. australis* y *C. talarum*). Una alta divergencia en el genoma nuclear (ADNn) y mitocondrial (ADNmt) entre esta última entidad taxonómica y *C. talarum*, ha sido determinante para que la misma pueda ser considerada como una especie nueva del género (Tomasco y Mora 2014; Austrich et al. 2017). Se distribuye en una porción geográfica restringida que abarca desde el Arroyo Sauce Grande (38°59'S, 61°7'O) hasta casi la localidad de Punta Alta (Austrich et al. 2017), presentando una zona de contacto con *C. talarum*. Estudios previos realizados con el intr6n de fibrin6geno beta (Tomasco y Mora 2014) y el ex6n DRB del MHC (Cutrera y Mora 2017) del ADNn, citocromo b y regi6n control del ADNmt (Tomasco y Mora 2014),

apoyan estos resultados, sugiriendo fuertemente la presencia de una nueva especie en el área del sureste bonaerense. Esta nueva entidad, de características fenotípicas similares a *C. talarum*, mantiene poblaciones de alta densidad en sectores de las dunas con un nivel considerable de cobertura vegetal (segunda franja de dunas), diferenciándose en cierta medida de los sectores de ocupación de *C. talarum*, debido a que presentan una granulometría del suelo diferente, con mayor contenido de arena (obs. pers.).

Desde el punto de vista de la dispersión de estas especies, el sistema de dunas en el que se encuentran se halla interrumpido tanto por barreras naturales (ríos, arroyos, zonas bajas e inundables) como antrópicas (ciudades y pueblos balnearios y forestaciones), incrementado el grado de fragmentación de los ambientes naturales a lo largo de estos últimos años (Mora y Mapelli 2010). Ante este escenario de alteración ambiental, resulta importante predecir la forma en la que la configuración del paisaje determina la dinámica y estructura de las poblaciones naturales de estos roedores. Teniendo en cuenta esto último, en esta Tesis se ha planteado un amplio muestreo que toma en cuenta un diseño de captura de ejemplares en dunas costeras tanto en áreas presuntamente naturales, como en áreas con diferente grado de impacto antrópico.

El objetivo general de esta tesis es integrar distintos aspectos de las características del paisaje junto a la diversidad y diferenciación genética de las especies de tuco-tucos presentes en el sector costero bonaerense. Particularmente, se caracteriza el paisaje costero de la Provincia de Buenos Aires habitado por las tres especies de *Ctenomys*, evaluando el impacto antrópico en las dunas costeras mediante la cuantificación de la fragmentación de los ambientes naturales (Capítulo I). También, a partir de reconstrucciones filogenéticas que comparan varias especies del género *Ctenomys*, se describe a *Ctenomys* sp. como una nueva especie presente en el cordón dunícola del sureste de la Provincia de Buenos Aires, detallando las relaciones evolutivas y de parentesco con otras especies del mencionado género (Capítulo II). Por otro lado, se analiza las distribuciones potenciales y requerimientos ecológicos para las tres especies de tuco-tucos mediante el enfoque metodológico de Modelos de Distribución de Especies (MDE; Capítulo III). Por último, utilizando marcadores moleculares hipervariables (microsatélites), se establece el grado de estructuración genética de las poblaciones naturales de *C. australis*, evaluando el impacto de la fragmentación natural y antrópica del hábitat sobre el patrón de flujo génico entre sus poblaciones (Capítulo IV).

Capítulo I

Cambios en el paisaje e incremento de la fragmentación en los hábitats de dunas costeras durante los últimos 30 años en la provincia de Buenos Aires, Argentina.

Resumen

Las Barreras Medanosas Oriental (BMO) y Austral (BMA) se extienden a lo largo de la costa de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Estas regiones han sido alteradas durante años por actividades antrópicas, como el desarrollo de ciudades y forestaciones con especies exóticas. En este estudio se cuantificó el efecto de las actividades antrópicas en el paisaje de dunas costeras, evaluando su evolución temporal durante los últimos 30 años. Utilizando imágenes satelitales Landsat de 1985, 1996, 2005 y 2015, se llevó a cabo clasificaciones supervisadas, obteniéndose así mapas temáticos para ambas barreras de dunas costeras. A partir de estos mapas se identificaron las principales clases de hábitats naturales y ambientes antrópicos, y se analizaron los cambios en sus extensiones y disposiciones espaciales a lo largo del tiempo. Los análisis temporales mostraron un reemplazo gradual, aunque con ciertas diferencias entre la BMO y la BMA, de los ambientes antrópicos sobre los hábitats naturales. Durante los últimos 30 años, el área afectada por las actividades antrópicas pasó del 13% al 31.7% en la BMO y del 3.6% al 5.9% en la BMA. En la BMA, la fragmentación de los principales hábitats naturales se incrementó con los años, mientras que la fragmentación de los hábitats en la BMO, aunque es más notoria que en la BMA, se mantuvo relativamente constante a lo largo del tiempo. Se observaron reducciones en la extensión de los hábitats naturales en aquellas áreas cercanas o directamente influenciadas por el desarrollo de ambientes antrópicos. En síntesis, ambas barreras de dunas costeras mostraron un claro avance de la fragmentación antrópica sobre los hábitats naturales, siendo la BMO la más afectada por las actividades humanas.

Introducción

Las presiones antropogénicas afectan seriamente la evolución del paisaje espacial y temporalmente (Laurance et al. 2011; Fahrig 2013; Wang y Caldas 2014). Una de las principales consecuencias de estas presiones es la pérdida de hábitat asociado con la fragmentación del paisaje, generándose discontinuidades en los diferentes tipos de hábitats con numerosos parches de tamaños pequeños y formas variadas, acompañado generalmente por un proceso de aislamiento de los mismos (Olf y Ritchie 2002). Varios estudios han demostrado como estas modificaciones tienden a alterar los sistemas ecológicos, incrementando la pérdida de especies nativas y la invasión de especies exóticas (Pardini et al. 2010; Haddad et al. 2015; Ochoa-Quintero et al. 2015). Los efectos negativos de la fragmentación de hábitat se han reportado en varias especies silvestres, incluyendo aves y mamíferos (Mapelli y Kittlein 2009; Sato et al. 2014; Amos et al. 2014), reptiles (Block et al. 2016), anfibios (Dixo et al. 2009), invertebrados (Martinson y Fagan 2014; Sequeira et al. 2016) y plantas (Alberio y Comparatore 2014).

Los ambientes costeros actualmente aparecen entre los ecosistemas más amenazados del mundo debido a la fragmentación del hábitat (Brown y McLachlan 2002). Particularmente, los hábitats de dunas costeras se caracterizan por ser muy dinámicos, escasos y fragmentados, debido principalmente a su evolución natural propia de zonas de transición (Carboni et al. 2009; Malavasi et al. 2018). En general, los hábitats de dunas costeras se extienden sobre una franja estrecha paralela a la costa, representando aproximadamente el 8% de la superficie de la Tierra (Vega de Seoane et al. 2007). Estos hábitats han sido severamente afectados por la actividad antrópica, fenómeno que ha causado un mayor grado de fragmentación “no natural” asociado con la pérdida de hábitat (Brown y McLachlan 2002; Malavasi et al. 2018; Sperandii et al. 2019).

A lo largo de la costa de la provincia de Buenos Aires, Argentina, se extienden dos barreras medanosas. La evolución y desarrollo de ambas barreras tiene una relación directa con las fluctuaciones del nivel del mar acontecidas en el Holoceno (Isla et al. 1996, 2001). Estas barreras, designadas como Barrera Medanosa Oriental (BMO) y Barrera Medanosa Austral (BMA), mantienen actualmente el último vestigio del bioma Pastizal Pampeano, en parte porque representan un hábitat inadecuado para la actividad agrícola (Zalba y Villamil 2002). Sin embargo, los pastizales naturales que conforman parte del bioma costero han sufrido múltiples transformaciones durante los últimos dos siglos (Ghersa et al. 2002); algunas de ellas se deben al desarrollo de plantaciones de árboles exóticos y al establecimiento y desarrollo de urbanizaciones (León et al. 1984; Viglizzo et

al. 2001). Cabe señalar, que estos hábitats de dunas costeras se encuentran actualmente rodeados de ambientes profundamente alterados por actividades antrópicas como la agricultura, la ganadería y el desarrollo urbano (Ghersa et al. 2002). A pesar del deterioro que esta región ha sufrido a través de los años, las dunas costeras persisten como refugio para muchas especies de animales y plantas que habitan en estos pastizales, incluidas aquellas que son estrictamente endémicas de estos sistemas de dunas (Cabrera 1979; Cabrera y Zardini 1979; Mora y Mapelli 2010).

En las dunas costeras de Buenos Aires, Argentina, el desarrollo urbano se incrementó a partir de los años 60', dando como resultado ciudades turísticas que fueron y son muy populares, concentrando una alta densidad demográfica en época estival. Estas ciudades adquirieron (en especial en los años 80') el estatus administrativo de conglomerados urbanos (Juárez e Isla 1999; Dadón 2002; Juárez y Mantobani 2006). Al estar ubicadas sobre las dunas costeras, las urbanizaciones están expuestas a la morfo-dinámica característica de estos sistemas (Hesp y Short 1999; Dillenburg y Hesp 2009), lo cual ha requerido un mantenimiento constante en función de garantizar su permanencia, con la consecuente degradación de los entornos naturales originales (Isla 2013). Teniendo como propósito estabilizar las dunas, reducir el impacto del viento e incrementar el atractivo de los sitios turísticos, se han introducido varias especies de árboles exóticos en las dunas costeras (Alberio y Comparatore 2014). Así, el avance de las forestaciones exóticas sobre la vegetación nativa es consecuencia, principalmente, del avance de las urbanizaciones. Varios géneros de plantas como la *Acacia*, *Populus*, *Pinus* y *Tamarix* son frecuentemente usadas para satisfacer este propósito, y debido a su alta capacidad dispersiva constituyen una de las principales amenazas para la conservación de las dunas (Zalba y Villamil 2002). Actualmente, los beneficios comerciales son otra razón para forestar las dunas costeras con especies de árboles exóticos (Turno Orellano e Isla 2004).

Varios estudios realizados en las dunas costeras bonaerenses han reportado como los asentamientos urbanos y el remplazo de plantas nativas por especies exóticas provocan cambios en la biodiversidad (Dadon 1999, Schwartz et al. 2006, Faggi y Dadon 2011, Block et al. 2016).

Debido a que cada paisaje tiene su propia historia de cambios, el diseño correcto de un plan de conservación necesita, en primera instancia, integrar la información sobre los cambios temporales en el patrón de cobertura del suelo (Marcucci 2000). En este punto, una cuantificación más precisa de estos cambios nos ayuda a comprender los

procesos ecológicos que subyacen a la evolución del paisaje, y permite establecer predicciones sobre el impacto que tiene la actividad antrópica en estos entornos (Negendra et al. 2004).

El objetivo de este estudio es analizar la evolución del paisaje de dunas costeras de la provincia de Buenos Aires, Argentina, utilizando datos de imágenes satelitales de distintos años. Específicamente, se cuantifica cómo las actividades humanas afectaron la composición y configuración de este paisaje en los últimos 30 años. Por lo tanto, utilizando herramientas de SIG, cuantificamos el grado de pérdida y fragmentación de las principales clases de hábitats naturales a lo largo del tiempo, y evaluamos el efecto de la urbanización y la forestación en la evolución del paisaje costero de dunas.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El área de estudio incluye el sistema de dunas costeras de la provincia de Buenos Aires, Argentina (Isla et al. 1996): la Barrera Medanosas Oriental (BMO), ubicada entre la laguna de Mar Chiquita (37° 44'S, 57° 25' O) y Punta Rasa (36° 18'S, 56° 46' O); y la Barrera Medanosas Austral (BMA), entre Miramar (38° 13'S, 57° 44' O) y Punta Alta (38° 55'S, 62° 02' O; ver Fig. 1). Estas barreras medanosas tienen entre 1 y 8 km de ancho, y se extienden a lo largo de 600 km de costa, con una interrupción de 60 km debido al afloramiento de sedimentos loéssicos que han dado origen a un sistema de acantilados sobre la línea de costa (desde Santa Clara del Mar hasta Miramar; ver Fig. 1). Esta área se encuentra incluida dentro de la región fitogeográfica Pampeana, que es uno de los principales ecosistemas de pastizal natural presente en América del Sur, junto con los de Brasil y Uruguay (Soriano et al. 1991).

De acuerdo con el grado de estabilidad de las dunas, se pueden distinguir diferentes tipos de hábitats. Las dunas vivas o activas son aquellas con nula o escasa cobertura vegetal, predominando principalmente tres gramíneas rizomatosas del género *Panicum* y *Spartina*, *P. racernosum*, *P. urvilleanum* y *S. ciliata*, todas pioneras de arenas movedizas. Otras especies de angiospermas, con menor representatividad, también pueden hallarse en este tipo de ambiente, como *Calycera crassifolia*, *Hyalis argentea* y *Sporobolus rigens* (Celsi y Monserrat 2008; Monserrat 2010). Las dunas que han sido estabilizadas con vegetación (dunas semifijas y fijas) cuentan con distintos géneros: *Imperata*, *Poa*, *Ambrosia*, *Adesmia*, *Neoparton*, *Androtrichum*, *Margyricarpus*, *Prosopis*, etc. Además, hay depresiones o zonas interdunales, con especies de plantas asociadas a

ambientes inundados (*Schoenoplectus californicus* y *Typha latifolia*; Cabrera 1971; Celsi y Monserrat 2008; Monserrat 2010).

Aunque las actividades antrópicas han progresado en ambas barreras de dunas costeras, la tasa de disminución de los diferentes hábitats naturales durante las últimas décadas se desconoce. Varias ciudades y villas balnearias se encuentran localizadas en ambas barreras medanosas. Las principales ciudades balnearias presentes en la BMO son Villa Gesell, Mar de Ajó, San Bernardo, La Lucila, Mar del Tuyú, Santa Teresita, Las Toninas, San Clemente del Tuyu y Pinamar. El crecimiento de estas ciudades en las últimas décadas ha transformado profundamente la matriz del paisaje (prácticamente no hay áreas rurales intercaladas entre las distintas ciudades). Por otro lado, en la BMA, el crecimiento urbano fue menor, con Necochea, Miramar y Monte Hermoso como las principales ciudades. Aquí, la matriz del paisaje se encuentra menos transformada y consiste en grandes extensiones de áreas rurales o naturales.

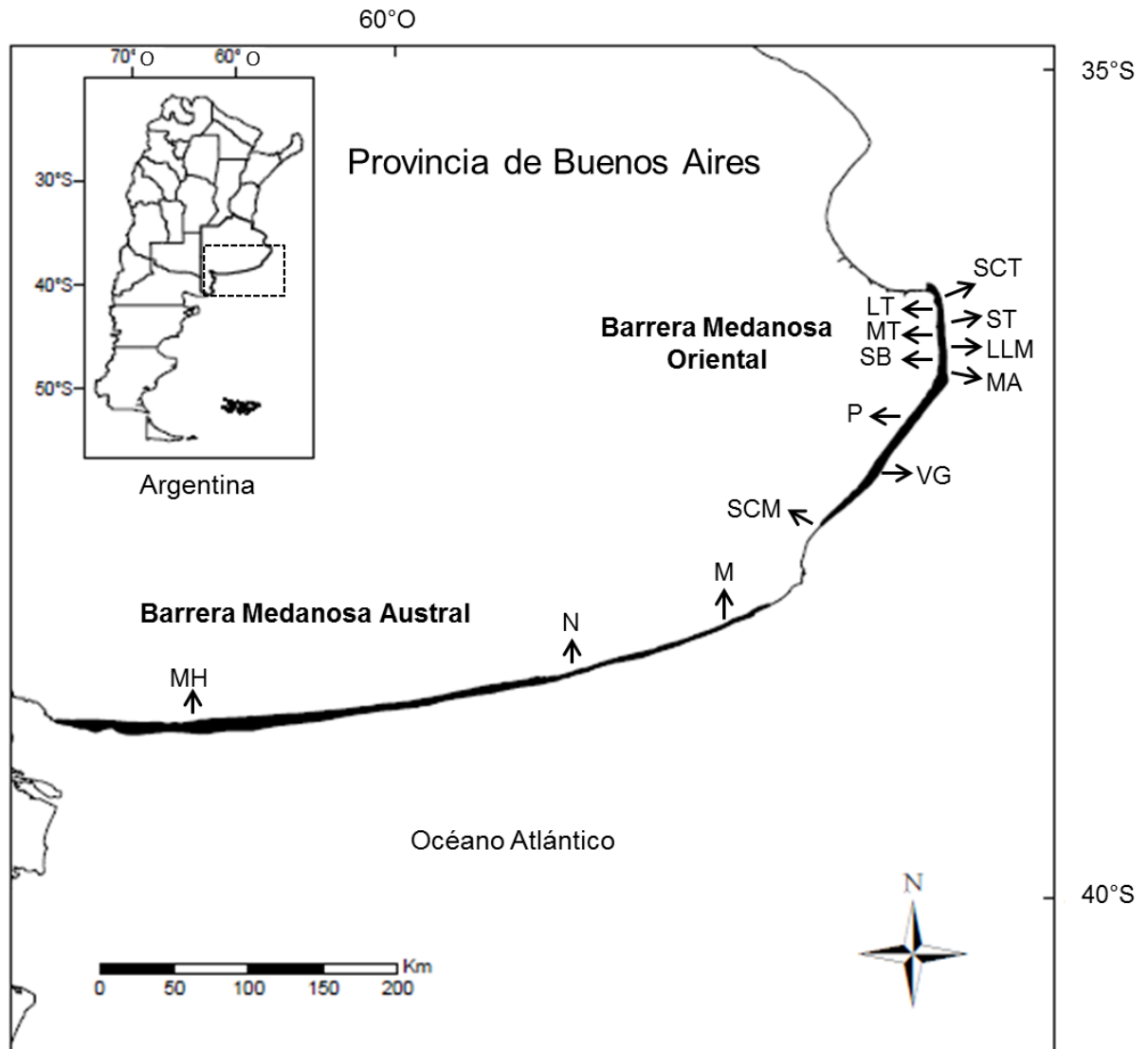


Figura 1. Mapa del área de estudio que muestra la Barrera Medanosa Oriental y la Barrera Medanosa Austral de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Se muestran las ciudades más importantes ubicadas en ambas barreras de dunas costeras: San Clemente del Tuyú (SCT), Las Toninas (LT), Santa Teresita (ST), Mar del Tuyú (MT), La Lucila del Mar (LLM), San Bernardo (SB), Mar de Ajó (MA), Pinamar (P), Villa Gesell (VG), Santa Clara del Mar (SCM), Miramar (M), Necochea (N) y Monte Hermoso (MH).

Procesamiento de imágenes satelitales

El uso de imágenes satelitales ha demostrado ser una herramienta muy útil para detectar los cambios en la cobertura del suelo a lo largo del tiempo (Carretero et al. 2014). Debido a esto, es que se utilizó imágenes satelitales Landsat para realizar clasificaciones supervisadas y, por lo tanto, poder analizar la dinámica temporal y espacial de las dunas costeras. Estas imágenes fueron descargadas de la página web United States Geological Survey (<http://www.usgs.gov>). Se usaron 5 imágenes satelitales para cubrir toda el área de estudio: 2 para la BMO y 3 para la BMA. Se utilizaron dos tipos de imágenes satelitales para analizar los diferentes períodos de tiempo. Por un lado, se seleccionaron imágenes Landsat TM (sensor "Thematic Mapper") para los años 1985/1986, 1996 y 2005; estas imágenes tienen siete bandas espectrales, lo que permite estudios de paisajes multitemporales (Chuvienco 1991). Por otro lado, las imágenes Landsat 8 OLI (sensor "Operational Land Imager") fueron seleccionadas para el año 2015/2016. Este nuevo sensor OLI, con 11 bandas espectrales, es más sensible a la variabilidad de la reflectancia de la superficie y está menos influenciado por las condiciones atmosféricas, demostrando ser una fuente confiable de datos para monitorear la cubierta terrestre (Ke et al. 2015). Tanto las imágenes Landsat TM como las OLI ya se han utilizado con éxito en estudios de clasificación de la cobertura del suelo en la Pampa argentina (Guerschman et al. 2003; Herrera et al. 2005; Carretero et al. 2014). Todas las imágenes fueron adquiridas durante la estación húmeda de Octubre a Abril (Sarochar et al. 2005); las mismas fueron imágenes libres de nubes, por lo que no fue necesario utilizar algoritmos de enmascaramiento. La resolución espacial para todas las imágenes fue de 30 m. Las bandas Landsat fueron corregidas atmosféricamente para la reflectancia de la superficie mediante el método de sustracción de objetos oscuros DOS, utilizando la función "radCor" de la biblioteca R "RStoolbox" (Goslee 2011).

Se realizaron clasificaciones supervisadas a partir de las imágenes satelitales para obtener los mapas temáticos de la BMO y la BMA para los diferentes períodos de tiempo; para esto se utilizó Erdas Imagine 14.0 con el algoritmo de máxima verosimilitud propuesto por Lillesand et al. (2014). En esta metodología, la probabilidad estadística de que el valor de un píxel sea miembro de una clase particular de cobertura de suelo se calcula a partir de un vector de medias y la matriz de covarianza. El píxel se asigna finalmente a la clase más probable. Se establecieron seis clases de hábitat para los mapas temáticos: *Dunas vivas*, con escasa o nula cobertura de pastizal natural, incluyendo playas de arena superior, dunas frontales activas y dunas interiores activas;

Dunas semifijas, con pastizal natural más continuo; *Dunas fijas*, con sub-arbustos, arbustos y varios taxones de plantas leñosas; *Bajos interdunales*, con presencia de vegetación asociada a ambientes inundados y suelo pantanoso; *Dunas forestadas*, con árboles exóticos; *Cuerpos de agua*, con cuerpos de agua limpia o turbia. Las *Ciudades* corresponden a la séptima clase incluida mediante un procedimiento diferente (véase más adelante). Las siete clases de hábitat se ilustran en el Anexo 1.

Debido a que la imagen OLI 2015/2016 fue la única imagen que pudo ser validada en el campo, fue la primera en ser clasificada. Primero, se generó una imagen compuesta en falso color (bandas 432), permitiendo una selección de los campos de entrenamiento para las seis clases de hábitat. La selección de los campos de entrenamiento se llevó a cabo tomando coordenadas geográficas con un GPS dentro de las clasificaciones de hábitat conocidas, mediante el reconocimiento de las mismas en el terreno durante el trabajo de campo, y posteriormente con la ayuda de Google Earth 7.1.8.3036 (Fig. 2). En la BMA, se utilizaron 375 campos de entrenamiento, de los cuales 53 corresponden a *Cuerpos de agua*, 71 a *Dunas vivas*, 54 a *Dunas forestadas*, 79 a *Dunas semifijas*, 60 a *Dunas fijas* y 58 a *Bajos interdunales*. En la BMO se utilizaron 226 campos de entrenamiento, de los cuales 27 corresponden a *Cuerpos de agua*, 37 a *Dunas vivas*, 45 a *Dunas forestadas*, 41 a *Dunas semifijas*, 53 a *Dunas fijas* y 23 a *Bajos interdunales*. Todos los campos de entrenamiento fueron georreferenciados a lo largo de ambas barreras de dunas costeras desde Abril hasta Octubre de 2015.

Debido a que las ciudades presentan un rango espectral muy similar a la arena, estas no pudieron ser diferenciadas del hábitat *Dunas vivas*. En consecuencia, las áreas urbanas fueron previamente digitalizadas y enmascaradas para los procedimientos de clasificación. Finalmente, se desarrollaron mapas temáticos que resultaron de la clasificación supervisada y las capas urbanas digitalizadas, incluyendo así las siete categorías.

Se utilizaron dos métodos para evaluar la precisión de la clasificación: la matriz de error y el coeficiente Kappa (Chuvieco 1990; Congalton 1991). Se tuvo en cuenta lo sugerido por Monserud (1990) en relación a los valores Kappa.

Una vez validada la clasificación 2015/2016, se llevó a cabo una extrapolación de las imágenes OLI a las imágenes TM mediante una estimación por máxima verosimilitud. Se obtuvieron los valores de los píxeles para las 6 bandas de las imágenes TM (electromagnéticamente equivalentes a las 6 bandas OLI utilizadas en 2015), y cada píxel fue asignado a una de las 7 categorías de cobertura de suelo en función de la distancia

multivariada de Mahalanobis correspondiente a los siete centroides. Por último, para corroborar la correspondencia de los distintos hábitats clasificados, se utilizaron fotografías aéreas próximas a los años 1985/1986 y 1996 y el historial de imágenes de Google Earth para evaluar las imágenes de 2005.

Análisis de Datos

La extensión de los ambientes naturales y los antropizados fue calculada para todos los años (1985/1986, 1996, 2005 y 2015/2016) y expresada en hectáreas. Se compararon los mapas temáticos de los diferentes períodos, evaluando los cambios temporales en las extensiones y la distribución espacial de los siete tipos de ambientes analizados en este estudio.

Debido a que la extensión y características espaciales de los tipos de hábitats *Bajos interdunales* y *Cuerpos de agua* dependen en gran medida de las precipitaciones (que tienen una alta variación interanual, Sarochar et al. 2005), el análisis se concentró en los hábitats más característicos de las barreras de dunas (*Dunas vivas*, *Dunas semifijas* y *Dunas fijas*).

Inicialmente, para visualizar las principales disminuciones y los quiebres producidos en los hábitats naturales, se graficó el patrón de distribución de las clases de hábitat a lo largo de la BMO y la BMA a partir de los mapas temáticos de 1985 y 2015 usando IDRISI Selva 17.0 (Eastman 2012). A partir de este último abordaje, se pudo contrastar los principales cambios que ocurrieron en los hábitats naturales en las últimas tres décadas, como así también informar aquellas áreas que no mostraron cambios drásticos con el tiempo. Para cada clase de hábitat se cuantificaron segmentos de 1 km de extensión a lo largo de las barreras de dunas costeras (190 km para EBD y 360 km para SBD).

Para identificar patrones de fragmentación, se llevaron a cabo diferentes análisis estadísticos y gráficos a partir de los mapas temáticos correspondientes a todos los años (1985, 1996, 2005 y 2015). En este contexto, se utilizó la función "PatchStat" de la biblioteca R "SDMTools" (VanDerWal et al. 2014), para calcular varias métricas del paisaje disponibles en FRAGSTATS v4.0 (McGarigal et al. 2002), y así evaluar los cambios en las características y la disposición espacial de los parches de hábitat a lo largo del tiempo. Por lo tanto, para cada clase de hábitat se determinó:

Número de parches: es igual al número de parches de la clase correspondiente. Esta es una medida simple del grado de subdivisión o fragmentación de un tipo de clase (McGarigal y Ene 2013).

Densidad de parches: es un valor relativo que permite comparar territorios de diferentes tamaños. Expresa la cantidad de fragmentos por unidad de área en 100 ha. Una clase con mayor densidad de fragmentos está más fragmentada (McGarigal et al 2002, Matteucci et al 2004).

Área de parche: este índice se analizó a nivel de parche para evaluar la distribución general de los fragmentos de cada clase. Representa el área (ha) de cada parche y su rango está limitado por el "grano" espacial del paisaje (McGarigal y Ene 2013).

Mediana del área de parche: este índice, a diferencia del anterior, se analizó a nivel de clase.

Índice del parche más grande: este índice, a nivel de clase, cuantifica el porcentaje del área de paisaje total comprendida por el parche más grande. Como tal, es una medida simple de dominio (McGarigal y Ene 2013).

Estas cinco métricas son ampliamente utilizadas en estudios de fragmentación del hábitat (Rutledge 2003). Para calcular estas métricas del paisaje, se consideró como regla de vecindad (*patch neighbor rule*), que las 8 celdas (píxeles) adyacentes a un tipo de ambiente pertenecen al mismo parche (*8 cell rule*). De esta manera, se consideran pertenecientes al mismo parche a las 4 celdas adyacentes ortogonalmente así como aquellas 4 que se encuentran adyacentes diagonalmente.

Finalmente, evaluamos cómo responden los principales hábitats naturales en relación con la proximidad a ambientes antrópicos. Este procedimiento pretende responder cómo se manifiesta la fragmentación del hábitat en relación con la distancia a las áreas antropizadas (*Ciudades y Dunas Forestadas*). Por lo tanto, la variación espacial de las métricas del paisaje para las diferentes clases de hábitat, se evaluó utilizando una ventana focal de 1 km de extensión. Los valores de las métricas para cada píxel de los mapas temáticos actuales (2015/2016) se obtuvieron moviendo esta ventana focal a lo largo de ambas barreras de dunas costeras. Se tuvieron en cuenta dos métricas del paisaje, número de parches y el área de parche, y con ellas se examinó su variación focal a lo largo de las dunas costeras. Se analizó solo el período 2015/2016, ya que el objetivo de este análisis es evaluar el grado de fragmentación de los hábitats naturales en su estado actual. Finalmente, para las tres clases de hábitat naturales, se realizaron análisis de regresión lineal para evaluar la relación entre las métricas del paisaje (número de

parches y área de parche) y la distancia a las áreas antropizadas. Los análisis de regresión lineal se basaron en 200 píxeles que fueron seleccionados al azar para cada clase de hábitat.

Resultados

Cambios en las áreas de los hábitats

La exactitud de las clasificaciones de las imágenes de la BMA 2015/16 y la BMO 2015 fue de 92.03 % y 92.17 %, respectivamente. El índice Kappa para la BMA 2015/16 y para la BMO 2015 fue de 0.89 y 0.88, respectivamente (ver Anexo 2 para más detalles sobre los hábitats específicos). Según la escala sugerida por Monserud (1990), se consideró que las clasificaciones fueron aceptables.

Las estimaciones de las superficies obtenidas para cada clase de hábitat para todos los años, incluidas las tasas de cambio inter-período, se muestran en la Tabla 1. Los mapas temáticos para todos los años se muestran en los Anexos 3 y 4. El área de superficie total permaneció constante a ~ 49.200 ha en la BMO y a ~ 123.300 ha en la BMA para las cuatro escenas LANDSAT; mínimas diferencias se deben principalmente a píxeles no clasificados.

Se observaron incrementos en las áreas urbanas y forestales en ambas barreras de dunas costeras, aunque en proporciones muy diferentes (Fig. 2 y 3; Tabla 1). Desde 1985, las ciudades y forestaciones mostraron mayores incrementos en la BMO comparado a la BMA (Fig. 3). En 2015, los ambientes antrópicos ocuparon casi el 32% en la BMO y solo el 6% en la BMA. En la BMO, los ambientes antrópicos aumentaron de un 13% en 1985 a un 32% en 2015, mientras que en el mismo período el aumento en la BMA fue solo del 3,6% al 6%.

Tabla 1. Cobertura estimada (ha) de las diferentes clases de hábitat en la Barrera Medanosa Oriental y la Barrera Medanosa Austral. También se presentan las tasas de cambio inter-períodos y totales (%) entre 1985/86 y 2015/16. Las cifras se redondean al grupo más cercano de diez (cobertura) o integral (tasas de cambio).

	Clases de Hábitat	Superficie (ha)				Porcentaje de Cambio			
		1985/86	1996	2005	2015/16	1985/86-1996	1996-2005	2005-2015/16	Total
BMO	Ciudades	4258	5994	6373	9709	41	6	52	128
	Dunas Forestadas	2126	4980	5955	6010	134	20	1	183
	Dunas Fijas	7044	7597	7337	4707	8	-4	-36	-33
	Dunas Semifijas	17090	12261	13465	17503	-28	10	30	3
	Dunas Vivas	16179	14783	11176	9992	-9	-24	-11	-38
	Bajos Interdunales	2197	3294	3885	686	50	18	-82	-69
	Cuerpos de Agua	328	314	1053	620	-4	235	-41	89
BMA	Ciudades	942	1154	1404	1895	22	22	35	101

Dunas Forestadas	3518	4488	4925	5441	28	10	10	55
Dunas Fijas	23387	34218	35283	34548	46	3	-2	48
Dunas Semifijas	60297	50470	54761	43319	-16	8	-21	-28
Dunas Vivas	26479	27840	23680	23362	5	-15	-1	-12
Bajos Interdunales	7047	3666	1406	12628	-48	-62	798	79
Cuerpos de Agua	1680	1348	1874	2289	-20	39	22	36

La BMO mostró un importante aumento en la superficie urbanizada en dos períodos distintos, entre 1985-1996 y 2005-2015, registrándose un 41% y 52% respectivamente; mientras que las forestaciones aumentaron principalmente durante el período 1985-1996 en un 134%, y solo un 20% en el período 1996-2005, sin presentar avances en la última década (Tabla 1). En la actualidad, el 19,7% de esta barrera costera está ocupada por ciudades y villas balnearias, mientras que las forestaciones ocupan el 12% del área (Fig. 3b). La BMA, por otro lado, presentó un incremento constante pero moderado en ambos tipos de ambientes antrópicos, sin superar el 35% de aumento por período (Fig. 3a; Tabla 1). En esta barrera costera, se encontró que el 1,6% del área se corresponde con ciudades y villas balnearias, y el 4,4% con forestaciones, indicando que estas últimas constituyen el principal factor antrópico de impacto en la actualidad. Además del incremento registrado en el área total ocupada por las ciudades, también se registró un incremento en su número. Para la BMO, en 1985 había 8 ciudades y villas balnearias, sumándose una más para el 2015. Para la BMA, en 1985 había 8 ciudades y villas balnearias, aumentó a 12 para el 2015.

Acompañando estos incrementos de urbanización y forestación, también se registró una disminución en la superficie de varios hábitats naturales en ambas barreras de dunas costeras. Para el período analizado, en la BMO, hubo una clara reducción en la superficie de *Dunas vivas*, *Dunas fijas* y *Bajos interdunales*, mostrando una pérdida total de superficie de 38%, 33% y 69%, respectivamente (ver Tabla 1). La pérdida de superficie de estos hábitats naturales resultó en 10.035 ha (20.4%), siendo *Ciudades* y *Dunas forestadas* los principales ambientes que ganaron estas hectáreas (Fig. 3b; Tabla 1). En la BMA, la reducción se registró principalmente en *Dunas vivas* y *Dunas semifijas*, mostrando una pérdida total de superficie de 12% y 28%, respectivamente, de 1985 a 2015 (Tabla 1). La pérdida de superficie de estos hábitats naturales dio como resultado 20.060 ha (8,13%), siendo *Dunas fijas*, *Bajos interdunales*, *Ciudades* y *Dunas forestadas* los principales ambientes que ganaron estas hectáreas (Fig. 3a; Tabla 1).

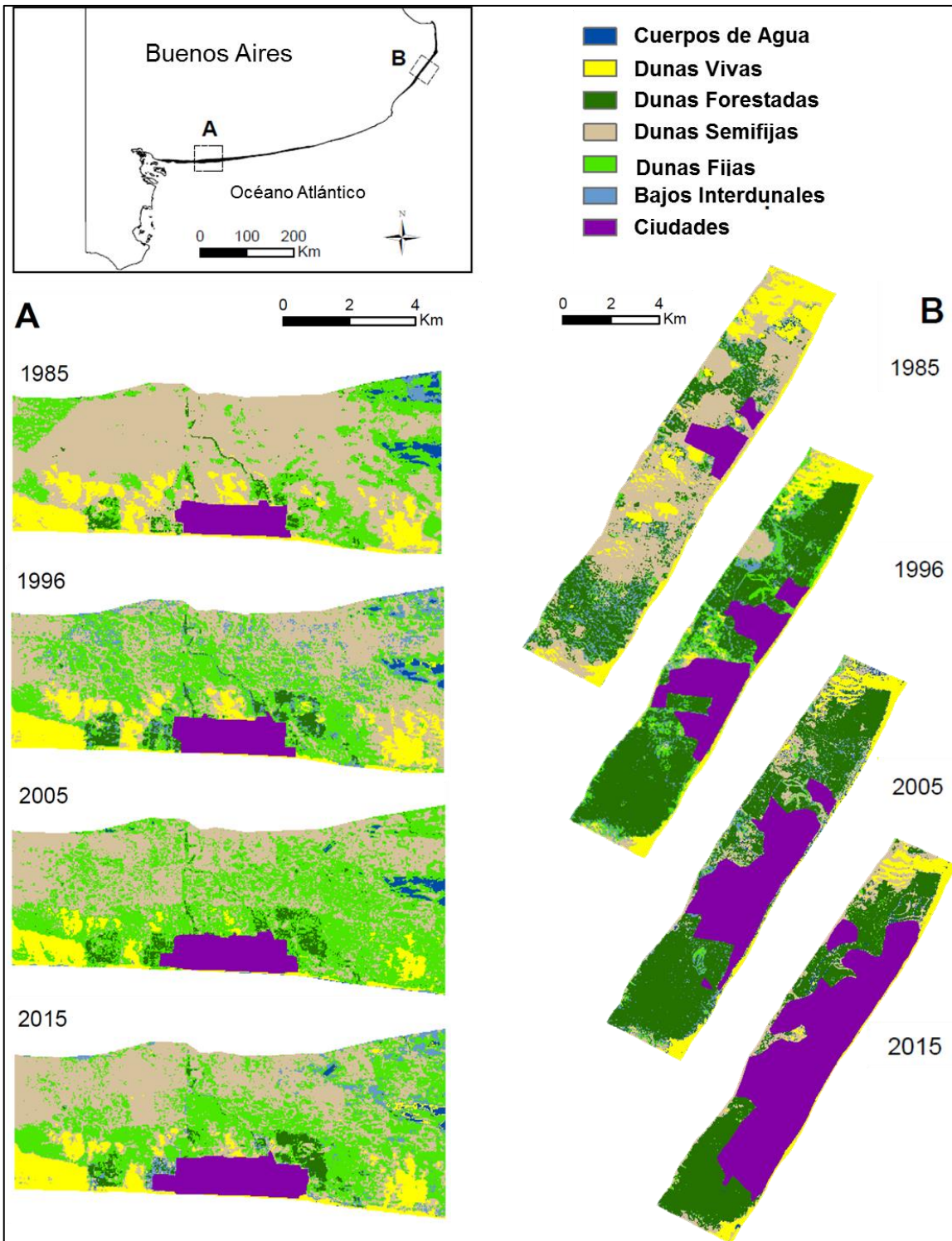


Figura 2. Sectores de los mapas temáticos que muestran el cambio en la cobertura del suelo de 1985 a 2015 correspondiente a la (A) Barrera Medanosa Austral (BMA) y a la (B) Barrera Medanosa Oriental (BMO).

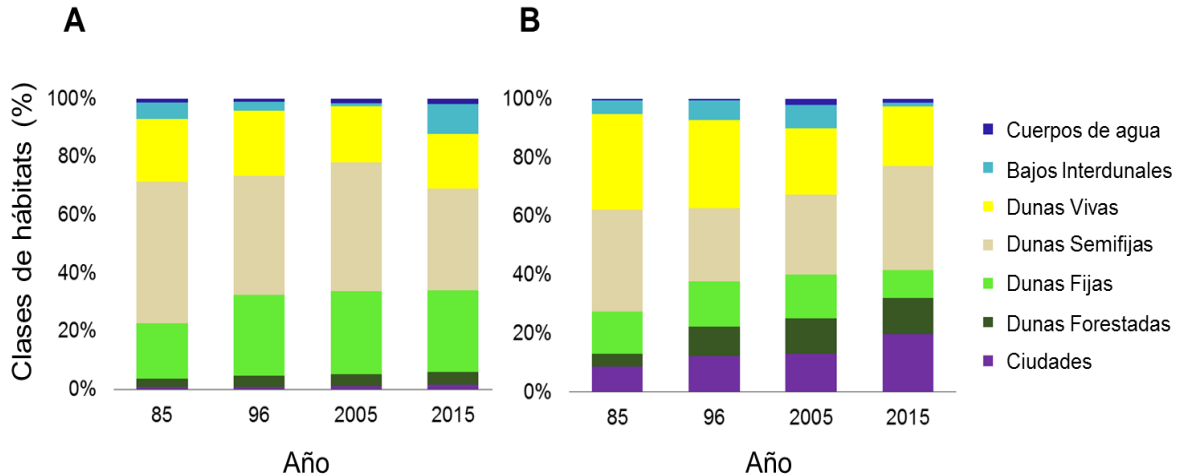


Figura 3. Porcentaje de superficie de las diferentes clases de hábitat para los diferentes años correspondientes a (A) Barrera Medanosa Austral (BMA) y (B) Barrera Medanosa Oriental (BMO).

Fragmentación

Las ciudades, pueblos y forestaciones generan interrupciones marcadas en los hábitats naturales a lo largo de la BMO. El sector costero entre San Clemente del Tuyú y Mar de Ajó mostró pocos cambios en los tres hábitats naturales entre 1985 y 2015 (Fig. 4). Debido a que las ciudades de este sector costero, junto a sus forestaciones circundantes, ya se encontraban desarrolladas en 1985, las mismas mostrando un ligero incremento hasta la actualidad, con los tres hábitats naturales pobremente representados tanto en 1985 como en 2015; las *Dunas vivas* y las *Dunas semifijas* son las más escasas. Hacia el sur, la distribución de los tres hábitats naturales se encuentra actualmente interrumpida por grandes forestaciones alrededor de Pinamar y Cariló. En esta zona, los ambientes antrópicos ocupan todo el ancho de la barrera costera, lo que resulta en la casi ausencia del hábitat *Dunas fijas* (que apenas se encontraba representado en 1985, Fig. 4). En este sector, tanto las *Dunas vivas* como las *Dunas semifijas* registraron una mayor abundancia de sus superficies en 1985, estando hoy en día casi ausentes. Alrededor de Villa Gesell, Mar de las Pampas y Mar Azul, sin embargo, se observa que no ocurrieron cambios importantes entre 1985 y 2015. En este sector, algunos remanentes de hábitats de *Dunas vivas* y *Dunas fijas* persisten hasta la actualidad. Además, el hábitat *Dunas semifijas* está presente en algunas áreas a lo largo del borde superior de la franja costera, comprendiendo el hábitat principal de este sector (Fig. 4). Hacia el sur de Mar Azul no hay

centros urbanos y solo se encuentran pequeñas áreas de *Dunas forestadas*, por lo que los hábitats naturales están bien representados y distribuidos continuamente.

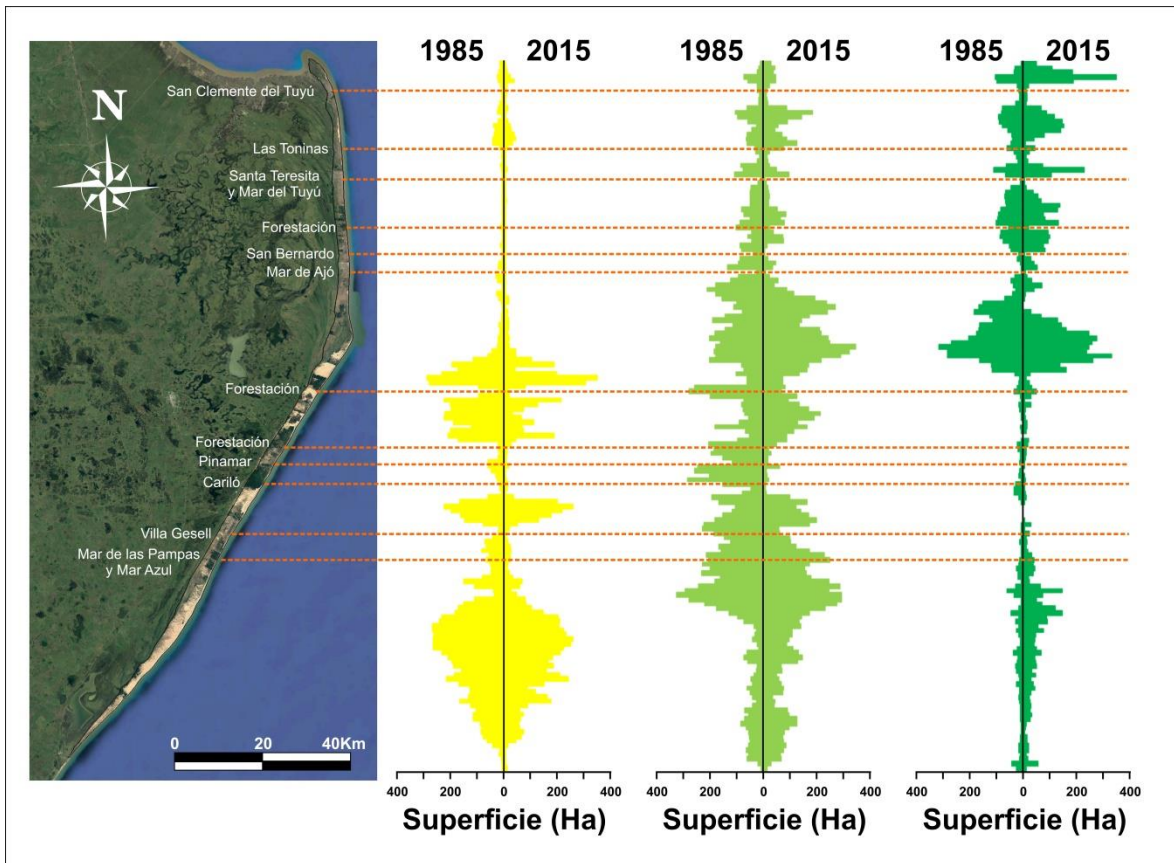


Figura 4. Distribución de las áreas correspondientes a los tres hábitats naturales de la Barrera Medanosa Oriental (BMO) en 1985 y 2015. Cada barra de los histogramas representa la cantidad de hectáreas presentes en 1 km de longitud a lo largo de la barrera costera de dunas. Las líneas punteadas indican las principales interrupciones o disminuciones de los hábitats naturales. Amarillo, *Dunas vivas*; verde claro, *Dunas semifijas*; verde oscuro, *Dunas fijas*.

También se observaron reducciones y discontinuidades en la distribución de hábitats naturales en la BMA, que es más estrecha hacia el sector oriental, el cual cuenta con 100 km de longitud y 1 km de ancho aproximadamente. Aquí, se ubican importantes plantaciones de pinos y áreas urbanas que comenzaron a desarrollarse desde antes de 1985, interrumpiendo la continuidad de algunos hábitats naturales en la actualidad (Fig. 5). El hábitat *Dunas semifijas* era escaso y discontinuo tanto en 1985 como en 2015, mientras que el hábitat *Dunas vivas* mostró algunos grandes parches, pero también con

discontinuidades abruptas debido a la presencia de ambientes antrópicos en 1985 y 2015. *Dunas fijas* es el único hábitat que mostró una diferencia notable en este sector entre 1985 y 2015, disminuyendo drásticamente al presente (Fig. 5). En el sector Oeste, donde la BMA es más amplia, los hábitats naturales se encuentran más representados. En general, como consecuencia de que este sector de la BMA es más ancho, y cuenta con un menor impacto antrópico, las áreas antropizadas no generan interrupciones significativas en la continuidad de los hábitats naturales. Se observan algunas excepciones en la zona de Claromecó (y las áreas forestadas circundantes) y Monte Hermoso, en relación con el hábitat de *Dunas vivas*. Estas interrupciones en la continuidad ambiental ya eran evidentes en 1985 y continúan hasta la actualidad.

Con respecto a los resultados de las métricas del paisaje, se encontró que la mayoría de los parches de hábitats naturales tienen menos de 4 ha (Fig. 4). En la BMO, el número de parches de hábitats naturales disminuyó de 13.138 en 1985 a 12.497 en 2015. En las tres clases de hábitats naturales, se observaron aumentos y disminuciones en el número de parches a lo largo de los distintos años. El hábitat *Dunas vivas* fue el único que no mostró cambios importantes entre años, manteniendo valores de número de parches muy similares desde 1985 hasta el presente (Tabla 2). El hábitat *Dunas fijas* fue el más variable de los tres hábitats, reportando un aumento considerable en 1996 y una disminución significativa en 2015. Actualmente, *Dunas fijas* reportó 971 parches más que en 1985 (Tabla 2). En la BMA, sin embargo, el número de parches de hábitats naturales aumentó de 18.285 en 1985 a 36.511 en 2015. Aunque se observaron algunos aumentos y disminuciones en el número de parches de los diferentes hábitats naturales, se pudo observar una tendencia hacia el incremento de estos valores. Los hábitats *Dunas semifijas* y *Dunas fijas* mostraron los mayores incrementos desde 1985 a 2015, con 6.725 y 6.051 parches adicionales, respectivamente (Tabla 2).

En 1985, la BMA contaba con una densidad de parche más bajas para los diferentes hábitats naturales en comparación con la BMO (Tabla 2). Estas diferencias en la densidad de parches desaparecieron en 2015, debido al incremento en los números de parche en la BMA, los cuales se equipararon a los de la BMO, que mostró valores similares en 1985 y 2015.

Con la excepción del hábitat *Dunas vivas* en la BMO, que mostró una disminución gradual de 1985 a 2015 (disminuyó casi un 9%), el Índice de parche más grande registró aumentos y disminuciones marcados entre los diferentes períodos para las diferentes clases de hábitat (Tabla 2). Con respecto a este índice, los hábitats naturales de la BMA

mostraron un patrón similar al de la BMO, sin presentar una tendencia estable entre 1985 y 2015.

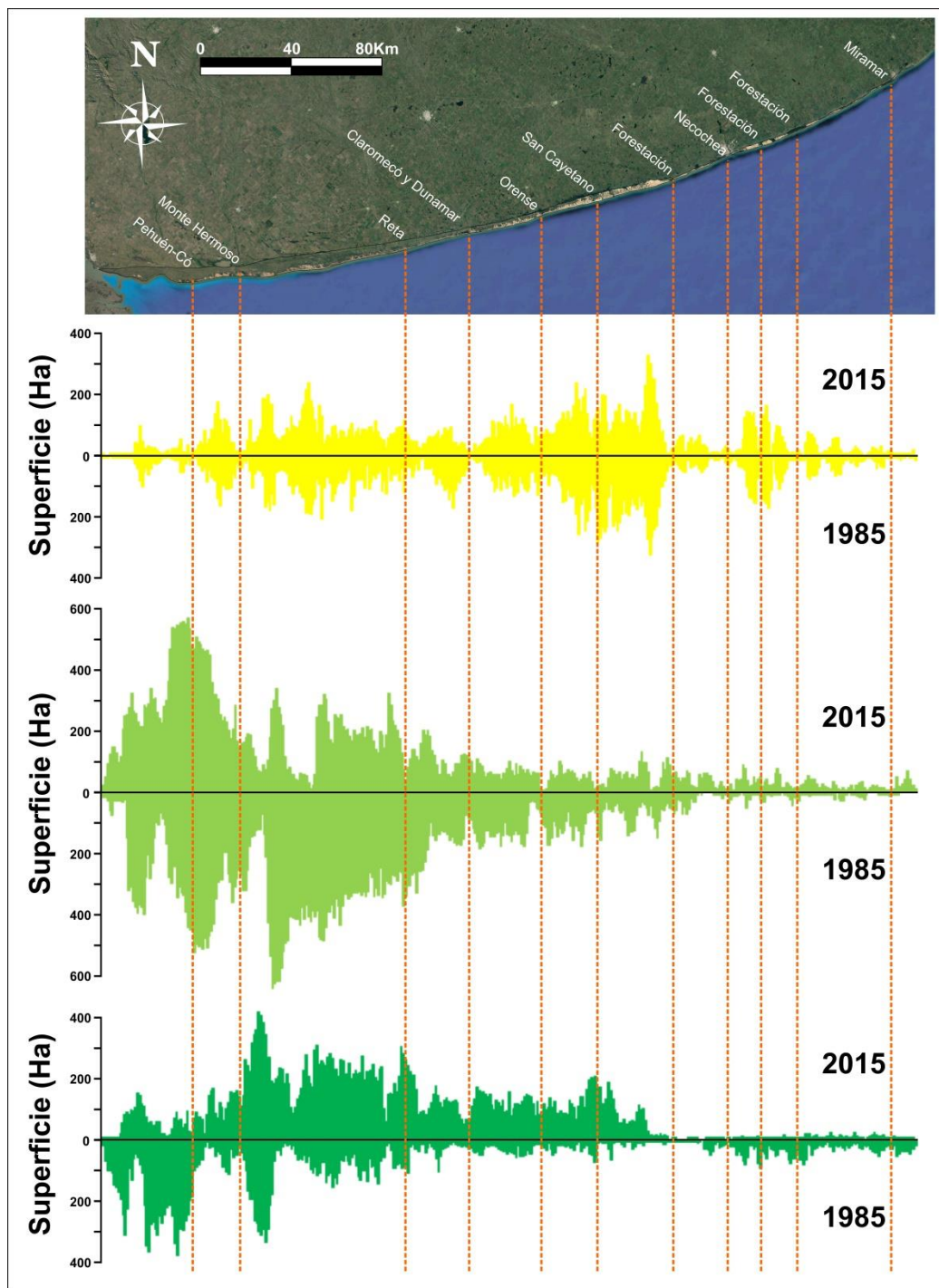


Figura 5. Distribución de las áreas correspondientes a los tres hábitats naturales de la Barrera Medanosa Austral (BMA) en 1985 y 2015. Cada barra de los histogramas

representa la cantidad de hectáreas presentes en 1 km de longitud a lo largo de la barrera costera de dunas. Las líneas punteadas indican las principales interrupciones o disminuciones de los hábitats naturales. Amarillo, *Dunas vivas*; verde claro, *Dunas semifijas*; verde oscuro, *Dunas fijas*.

El Área de parche y la Mediana del área de parche mostraron una clara diferencia entre ambas barreras de dunas costeras. Aunque la mayoría de los parches de todos los hábitats naturales resultaron pequeños, la BMA mostró una clara diferencia entre los años extremos, disminuyendo la proporción de parches más grandes para 2015 (Tabla 2; Fig. 6). La BMO, por otro lado, mostró valores de Área de parche similares entre diferentes períodos, con una gran proporción de pequeños parches ya presentes en 1985 (Tabla 2; Fig. 6).

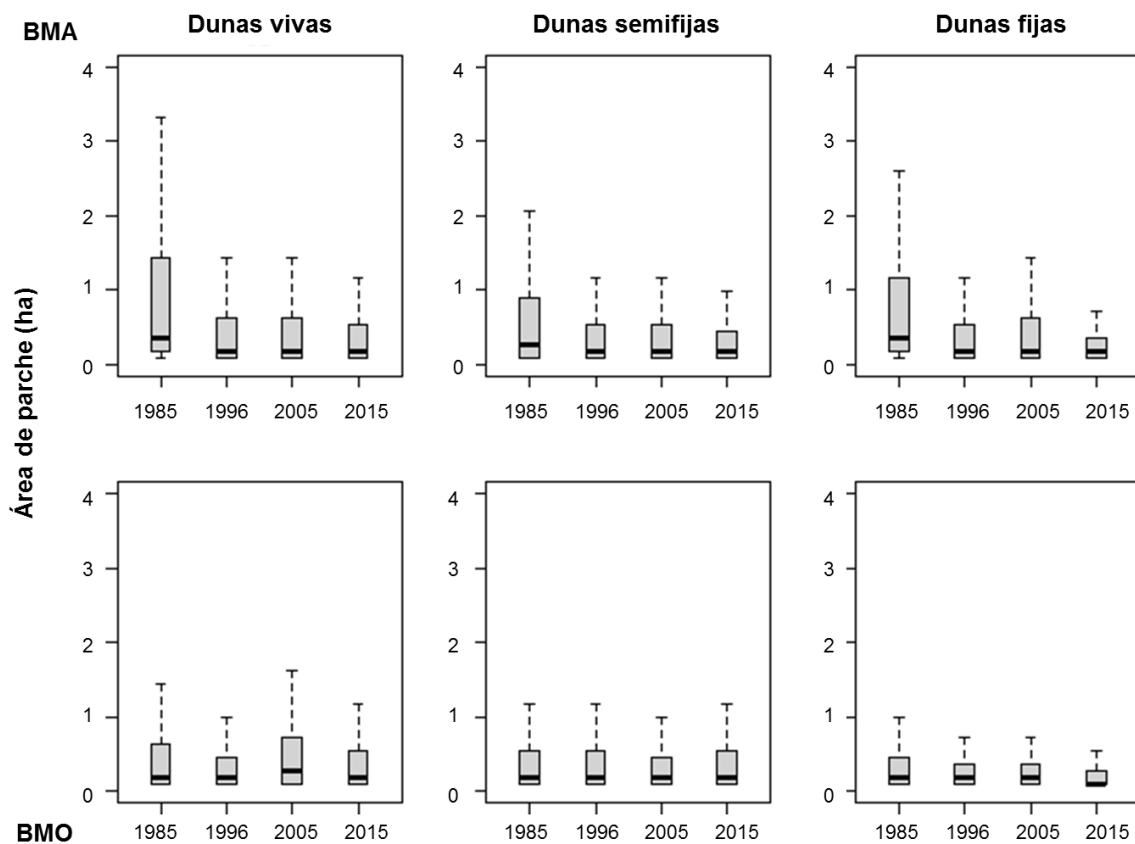


Figura 6. Área de parche (ha) de las diferentes clases de hábitat naturales correspondientes a la Barrera Medanosa Austral (BMA) y a la Barrera Medanosa Oriental (BMO).

Tabla 2. Valores de las métricas del paisaje correspondientes a la Barrera Medanosa Oriental (BMO) y a la Barrera Medanosa Austral (BMA).

Métrica	Periodo	BMO			BMA		
		Dunas Vivas	Dunas Semifijas	Dunas Fijas	Dunas Vivas	Dunas Semifijas	Dunas Fijas
Número de Parches	1985/86	1329	2998	2773	1032	3176	5347
	1996	1466	3240	5013	1812	7645	11341
	2005	1206	4528	5738	1662	7375	10961
	2015/16	1318	3083	3744	2340	9901	11398
Densidad de Parches (No./100 ha)	1985/86	2,69	6,07	5,62	0,83	2,57	4,33
	1996	2,97	6,56	10,15	1,47	6,19	9,18
	2005	2,44	9,17	11,62	1,34	5,97	8,87
	2015/16	2,67	6,25	7,58	1,89	8,01	9,23
Índice del Parche más Grande (%)	1985/86	18,68	9,92	3,06	4,15	16,93	3,15
	1996	13,84	3,88	1,91	7,54	12,37	3,33
	2005	10,24	3,93	3,53	6,59	17,19	8,08
	2015/16	10,13	8,44	0,68	5,83	15,62	4,12

	1985/86	0,12	0,12	0,12	0,36	0,18	0,24
Mediana del	1996	0,12	0,09	0,09	0,12	0,12	0,12
Área de	2005	0,13	0,12	0,09	0,12	0,18	0,18
Parque (ha)	2015/16	0,12	0,12	0,09	0,10	0,18	0,18

La relación entre las métricas del paisaje y la distancia a las áreas antropizadas analizadas con una ventana focal de 1 km mostraron algunas inconsistencias. Debido a la fragmentación de los hábitats naturales por actividades antrópicas, se espera una disminución en el número de parches y un incremento de su área a medida que aumenta la distancia a las áreas antropizadas. Este fue principalmente el caso del hábitat *Dunas vivas* en ambas barreras de dunas costeras, para *Dunas fijas* en la BMO, y parcialmente para *Dunas semifijas* en ambas barreras de dunas costeras. Sin embargo, los hábitats *Dunas semifijas* y *Dunas fijas* presentaron patrones inconsistentes, sin mostrar relación alguna entre las distancias y los valores de las métricas, o incluso mostrando una tendencia contraria a la esperada. Por ejemplo, en la BMO, *Dunas semifijas* mostró parches más grandes en la vecindad de los entornos antrópicos (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de las regresiones lineales correspondientes a Número de parches (NP) y Área de parche (AP) para los principales ambientes naturales de ambas barreras de dunas. Signo positivo (+) representa regresión positiva; signo negativo (-) representa regresión negativa; 0, sin tendencia.

Clases de hábitats	Ambientes Antrópicos	BMA		BMO	
		NP	AP	NP	AP
Dunas Vivas	Dunas Forestadas	-	+	-	+
	Ciudades	0	+	0	+
Dunas Semifijas	Dunas Forestadas	-	+	-	-
	Ciudades	0	0	0	-
Dunas Fijas	Dunas Forestadas	0	0	-	+
	Ciudades	+	-	-	-

Discusión

Se evaluó la dinámica del paisaje costero en la provincia de Buenos Aires (Argentina) en dos sistemas de dunas costeras en los últimos 30 años. Usando imágenes satelitales se analizó el grado en que las alteraciones humanas modificaron la composición y la configuración espacial de estos paisajes. Los análisis revelaron un incremento gradual y sostenido de las áreas antropizadas en ambos sistemas de dunas costeras, lo que resultó en la pérdida y fragmentación de los hábitats naturales. Los cambios más severos se registraron en la BMO, donde el avance antrópico fue de mayor magnitud. Por el contrario, la BMA tuvo un impacto urbano notablemente menor, representado principalmente por áreas rurales. Aunque la fragmentación de los hábitats naturales aumentó en las últimas décadas en ambas barreras de dunas, solo la BMO mostró signos de temprana fragmentación. Aunque la BMA se vio menos afectado por las transformaciones antrópicas, en ambos sistemas de dunas se observó un claro incremento en la fragmentación de sus hábitats y en la pérdida de ambientes naturales.

Dinámica temporal de las barreras de dunas costeras

Los ecosistemas de dunas naturales presentan una complejidad bien definida como resultado de la interacción de factores bióticos (ej. desarrollo de la vegetación psamófila) y abióticos (ej. transporte de arenas por los vientos; Doing 1985). Las actividades humanas pueden alterar drásticamente este equilibrio, afectando los procesos geomorfológicos (tanto en términos de erosión como de estabilización) e impactando negativamente los recursos naturales de estos ecosistemas de dunas (Provoost et al. 2011). Particularmente, el desarrollo de la infraestructura urbana y las forestaciones utilizadas para estabilizar las dunas activas, han provocado no solo la pérdida de hábitat natural, sino también la fragmentación del paisaje a gran escala (Christensen y Ib 2001; Rhind et al. 2001; Favennec 2002; Taveira Pinto 2004). Las dunas costeras de la provincia de Buenos Aires se encuentran atravesando este proceso antrópico. Varios estudios realizados en esta región revelaron que el impacto antrópico ha afectado seriamente los hábitats naturales (Dadon 2002; Barragán Muñoz et al. 2003; Isla 2013). Los resultados del presente estudio fueron concluyentes con respecto a esto, mostrando un incremento sostenido tanto en el desarrollo urbano como en la forestación con especies exóticas. Los ambientes antrópicos duplicaron su superficie en ambas barreras de dunas costeras durante los últimos 30 años; sin embargo, debe tenerse en cuenta que varios de los entornos naturales ya fueron afectados previo al período de tiempo

analizado en este estudio. La BMO mostró mayores signos de impacto antrópico que la BMA, tanto en la actualidad (2015) como en el pasado (1985).

Una de las principales consecuencias del incremento de las áreas antropizadas ha sido la pérdida y fragmentación de diferentes hábitats naturales en los últimos 30 años. Sin embargo, se observó que algunos hábitats naturales también aumentaron su extensión. En ambas barreras de dunas se puede observar que hay sectores donde el desarrollo urbano o forestal nunca tuvo lugar; a pesar de esto, se registraron cambios tanto en la disposición espacial de los hábitats naturales como en su abundancia. Por ejemplo, en la BMO (entre Mar de Ajó y Pinamar, y al sur de Mar Azul) y en la BMA (por ejemplo, entre Reta y Monte Hermoso, y entre Orense y Claromecó), se observaron cambios en la extensión y en la disposición espacial de los hábitats naturales. Esto puede deberse, por lo tanto, a la dinámica natural de estos paisajes costeros. Alguno de los principales procesos naturales responsables de esta dinámica es la alta variabilidad de las precipitaciones anuales en la región pampeana (Aliaga et al. 2016). Ambas barreras de dunas se encuentran catalogadas dentro de las subregiones “Moderadamente Húmeda” y “Húmeda”, correspondientes a la región pampeana (Aliaga et al. 2016), denotando valores intermedios de precipitaciones que oscilan entre los 750 y 1100 mm. En las últimas décadas se ha observado que, tanto los eventos de sequía como de precipitaciones intensas (causando inundaciones en algunos casos) en la región pampeana, han sido más extremas comparados a décadas anteriores (Ferrelli y Aliaga 2015). Esta variabilidad interanual en las precipitaciones genera cambios del tipo espacio-temporal sobre las distribuciones y extensiones de los cuerpos de agua y el uso de suelo (Aliaga et al. 2016). Este podría ser uno de los principales motivos por el cual la disposición espacial de los hábitats naturales en ambas barreras de dunas fueron fluctuando a través de los años, sin la intervención aparente del impacto antrópico. Este es un punto importante a tener en cuenta, ya que las predicciones a futuro indican un aumento en las precipitaciones debido al efecto de los gases invernaderos (Muller y Gorman 2011), aumentando tanto en frecuencia como magnitud (Ferrelli et al. 2020). Así, un incremento en las precipitaciones debido al cambio climático podría ser uno de los factores naturales claves que traiga aparejado cambios en la dinámica natural de los hábitats naturales. Otro de los procesos naturales relacionado con la dinámica natural de estos paisajes costeros, es la erosión costera. Distintos factores pueden promover este tipo de proceso, tanto naturales como antrópicos. Si bien en este trabajo no se estudio el efecto que tendrían las urbanizaciones y forestaciones sobre la erosión costera, proceso que ha sido estudio por otros autores,

llegando a la conclusión de que potencian dicha erosión (Isla 2006, 2013; Rodríguez-Alza et al. 2016), no puede dejar de mencionarse que es uno de los principales agentes involucrado en la dinámica de los ambientes costeros. Las dunas vivas, principalmente el sector de playa que delimita la línea de costa, es uno de los hábitat naturales más afectados. Dado que el principal agente de remoción y transporte de sedimentos en las playas es el mar, las tormentas, por ejemplo, resultan ser uno de los principales factores naturales que potencian la erosión costera (D'Amico 2009). En las barreras de dunas bonaerenses se pueden encontrar playas donde se cumple una cierta estabilidad en relación con la dinámica sedimentaria, y playas donde este equilibrio no se cumple (Isla 2013). Pero más allá de estas diferencias notorias entre las playas de distintos sectores, es importante mencionar que todas ellas se ven afectadas por el aumento sostenido del nivel del mar, debido principalmente a la expansión térmica del océano y al derretimiento de los glaciares (Kokot et al. 2004; Rodríguez-Alza et al. 2016). Así, la erosión costera es una problemática a nivel mundial que produce pérdida de playa (y por ende de dunas vivas), mostrando una clara tendencia hacia la aceleración (Rodríguez-Alza et al. 2016).

Los resultados destacan cómo el desarrollo de áreas urbanas y forestaciones sin previa planificación, impacta en el patrón de distribución de los hábitat naturales. Los principales asentamientos a lo largo de la costa de la provincia de Buenos Aires, se expandieron a través de un proceso acelerado de construcción y urbanización (Juárez y Mantobani 2006; Isla 2013). Esto fue regido por la Ley Provincial 3487/1913, que no tuvo en cuenta las características y la dinámica de los sistemas de dunas (Juárez y Mantobani 2006). Originalmente, los entornos de dunas costeras fueron considerados como un obstáculo para el desarrollo urbano, y las autoridades provinciales y/o municipales terminaron recurriendo a procedimientos como la fijación de dunas a través de la forestación (Juárez y Mantobani 2006). Esta es una de las principales razones por la cual los pueblos y ciudades costeras se encuentran rodeados de grandes plantaciones de especies exóticas, convirtiendo así las grandes áreas de pastizales naturales en plantaciones de árboles exóticos que aislaron y desconectaron los hábitat naturales. Además, durante estas etapas iniciales de urbanización, y sin considerar la preservación de los paisajes naturales, gran parte de los lotes cercanos a la costa se vendieron a propietarios particulares, lo que resultó en un avance importante de los edificios sobre la línea costera (Juárez y Mantobani 2006). Este acontecimiento podría explicar la escasez del hábitat de dunas vivas en varios sectores antropizados de ambas barreras de dunas costeras desde 1985. El sector norte de la BMO es un claro ejemplo, donde la mayoría de

las ciudades se establecieron alrededor de 1940, alcanzando un desarrollo importante para los años 80.

De 1985 a 2015, los hábitats naturales de la BMO mostraron mayores interrupciones en su continuidad. En la BMO, se observó claramente dos situaciones diferentes de Norte a Sur. En el sector Norte, debido a que gran parte del crecimiento urbano tuvo lugar alrededor de 1940 (Juárez y Mantobani 2006), alcanzando un desarrollo y una extensión significativa en 1985, los hábitats naturales no mostraron grandes cambios. Sin embargo, a lo largo del sector Sur de la BMO, el desarrollo urbano prosperó entre las décadas de 1960 y 1970, continuando en la actualidad. Los hábitats naturales a lo largo de este sector se han visto seriamente afectados por el constante desarrollo urbano, mostrando claras reducciones durante las últimas tres décadas. Debido a que las principales ciudades de la BMA también comenzaron a desarrollarse antes de 1985 (por ejemplo, Miramar y Necochea), algunos hábitats naturales no mostraron cambios entre los años analizados (1985-2015). Teniendo en cuenta que la mayor parte del desarrollo urbano y turístico en ambas barreras de dunas costeras comenzó antes de 1985, los últimos 30 años solo capturan parte del proceso de fragmentación antrópica que experimentaron estos paisajes en la provincia costera de Buenos Aires.

Métricas del paisaje y fragmentación

Ambas barreras de dunas costeras mostraron diferentes grados de fragmentación, junto a un claro aumento de los ambientes antrópicos. Sin embargo, los hábitats naturales no revelaron la tendencia esperada con respecto a los valores de fragmentación. Los hábitats naturales de ambas barreras costeras mostraron cambios irregulares entre diferentes años. Estos resultados ilustran aspectos de la dinámica que caracteriza a este tipo de entorno (Carboni et al. 2009; Malavasi et al. 2018). Los paisajes de dunas costeras se caracterizan por estar expuestos a duras condiciones ambientales, resultando en el establecimiento de zonas de ecotonos (Bazzichetto et al. 2016); por lo tanto, sus hábitats tienen límites que van variando su posición y son impulsados por ciertos factores ambientales (por ejemplo, acreción y erosión de arena impulsada por las olas, transporte de arena, inundaciones, etc.; Malavasi et al. 2018). Estas condiciones controlan, entre otras cosas, la morfología y la ubicación de las dunas, lo que hace que estos paisajes presenten una cierta inestabilidad temporal (Brown y McLachlan 2002).

Las barreras de dunas costeras cuentan con diferentes antecedentes en cuanto al proceso de fragmentación de sus hábitats naturales. En 1985, la BMO contaba con más

parches pequeños (y también una mayor densidad de parches) que la BMA, en relación a todos los hábitats naturales. En este contexto, su mayor grado de fragmentación podría estar asociado al temprano desarrollo urbano de esta barrera costera. Además, el tamaño de parches de los hábitats naturales de la BMO no cambió sustancialmente entre 1985 y 2015. Al parecer, a pesar de que las urbanizaciones y forestaciones registraron una gran extensión en esta región costera, esto no se tradujo en un aumento de la fragmentación de los hábitats naturales. Las mismas métricas del paisaje que se utilizaron en este estudio, han resultado ser muy sensibles y consistentes para cuantificar la fragmentación del hábitat en otros sistemas de dunas costeras, tanto a finas como grandes escalas (Carboni et al. 2009; Tomaselli et al. 2012; Malvasi et al. 2018). Aparentemente, estas métricas no reflejaron de manera efectiva los cambios producidos por el desarrollo de los entornos antrópicos, incluso en la BMO, que resultó ser la más afectada por este desarrollo. Al contrario de lo observado en la BMO, la BMA mostró un patrón diferente en relación a las métricas del paisaje durante el período de estudio analizado. En 2015, todas las clases de hábitats naturales tenían un mayor número de parches y una mayor densidad de parches (evidenciando una reducción significativa en el tamaño de parche); esto sugiere que la fragmentación del hábitat aumentó a lo largo de esta barrera de dunas costera. Estos resultados denotan que los hábitats naturales eran más grandes y más continuos a lo largo de la BMA en 1985. Los ambientes antrópicos en este paisaje costero representan solo el 6% de la superficie total, por lo tanto, los procesos naturales podrían haber desempeñado un papel importante en el avance de la fragmentación. Ciertos tipos de hábitats naturales tienden a fragmentar otros hábitats debido a su distribución espacial. Los hábitats *Bajos interdunales* y *Cuerpos de agua*, generalmente ocurren de manera discontinua e intercalados entre otros hábitats. Para 2015, hubo un notable aumento en la superficie de *Bajos interdunales* en la BMA, y el hábitat *Cuerpos de agua* registró su mayor valor de superficie de las últimas tres décadas. Particularmente, alrededor de éste año se registró un incremento notable en las precipitaciones, tanto en la región pampeana como alrededores, siendo éstas las principales causantes del aumento de ambos tipos de hábitats naturales. Tanto los *Bajos interdunales* como los *Cuerpos de agua* estarían interrumpiendo la continuidad de otros hábitats. Estas discontinuidades (de origen natural) generarían disminuciones en el tamaño de los parches aumentando su número, produciendo hábitats más fragmentados. De esta manera, y teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente respecto a una tendencia hacia el incremento de las precipitaciones anuales (Ferrelli et al. 2020), sería esperable que éste tipo de

fragmentación natural sea cada vez más común. Carboni et al. (2009) y Tomaselli et al. (2012) también informaron sobre casos en los cuales los procesos naturales han jugado un papel importante en este tipo de paisajes. Utilizando métricas del paisaje, estos autores compararon áreas con diferentes grados de impacto antrópico de la costa italiana. Informaron de un mayor grado de fragmentación en áreas menos impactadas por el desarrollo urbano, debido a que presentaba una mayor heterogeneidad ambiental.

También se evaluó la variación espacial de las métricas del paisaje en resoluciones espaciales más finas. Según lo sugerido por Jolicoeur y O'Carroll (2007; ver también Cook 2002 y Corry 2005), esto expondría patrones emergentes a diferentes escalas del paisaje.

El efecto del impacto antrópico sobre los hábitats naturales se ilustra mediante los cambios en los valores de fragmentación a medida que nos alejamos de las áreas antropizadas. En ambas barreras de dunas costeras, algunos hábitats naturales se fragmentaron más en las cercanías a las ciudades y forestaciones. *Dunas vivas* mostró un mayor grado de fragmentación (más cantidad de pequeños parches) en los alrededores de las forestaciones y ciudades. Esto tiene sentido dado que los ambientes antrópicos se disponen principalmente sobre la franja de dunas activas. También, *Dunas vivas* fue el único hábitat que mostró una clara reducción de los parches más grandes para 2015 en la BMO. Además, se observó que este hábitat natural disminuyó su superficie para 2015 en ambas barreras de dunas costeras. Al parecer, *Dunas vivas* es uno de los hábitats más susceptibles a la intrusión antrópica, fragmentándose en parches más pequeños y más numerosos. En algunos casos puede ocurrir lo contrario; Lasta et al. (2010) analizaron el desplazamiento de las dunas vivas y descubrieron que su extensión se incrementa en cercanías a algunas ciudades como resultado de la acción del viento, ya que las ciudades restringen el desplazamiento de las dunas. En el presente trabajo, el hábitat *Dunas semifijas* fue el que presentó una mayor área de parche en la vecindad de las ciudades y forestaciones.

¿Por qué es importante proteger estos paisajes costeros?

Varios estudios destacan la necesidad de proteger los ecosistemas de dunas costeras de Buenos Aires, para asegurar así la viabilidad a largo plazo de sus hábitats naturales (Kittlein et al. 2004; Monserrat y Celsi 2009). Estos hábitats naturales albergan varias especies de plantas endémicas, como *Poa schizantha* y *Senecio bergii*, y poblaciones relictuales de la rara y amenazada *Neosparton ephedroides*. Las especies de

vertebrados endémicos, como *Ctenomys australis* y *Liolaemus multimaculatus*, solo se encuentran presentes en la BMA. Al mismo tiempo, los entornos de dunas costeras proporcionan un refugio a varias plantas y poblaciones de animales propias de entornos de pastizales, cuyos hábitats se han visto notablemente afectados por las actividades antrópicas en las zonas alejadas a la costa (Cabrera y Zardini 1979; Mora y Mapelli 2010). El diseño de políticas de conservación apropiadas para estos entornos cambiantes, debe basarse en un confiable conocimiento de su dinámica a largo plazo. Los resultados presentados aquí resaltan el valor de los estudios espaciales a gran escala durante largos períodos de tiempo, para evaluar y comprender los procesos ecológicos subyacentes a los cambios del paisaje (Marcucci 2000). Las predicciones sobre las tasas de cambio futuras y la vulnerabilidad de estos ecosistemas deben basarse en dicho conocimiento (Negendra et al. 2004).

Casi el 20% del área de la BMO está actualmente protegida por reservas naturales u otras formas de unidades de conservación, pero sin la aplicación efectiva de las medidas de protección. A lo largo de la BMA, solo el 2% de su área se encuentra protegida por alguna unidad de conservación, encontrándose lejos del estándar internacional mínimo recomendado del 10 a 15% (Celsi y Monserrat 2008). Considerando los resultados discutidos anteriormente, la protección de los hábitats naturales en las dunas costeras de Buenos Aires se encuentra seriamente atrasada. Se necesitan nuevas unidades de conservación, principalmente en la BMA, que cuenta con grandes extensiones de hábitats naturales de gran valor biológico. Además, los hábitats de dunas a lo largo de la BMO necesitan de una mejor administración y apoyo gubernamental.

Anexos

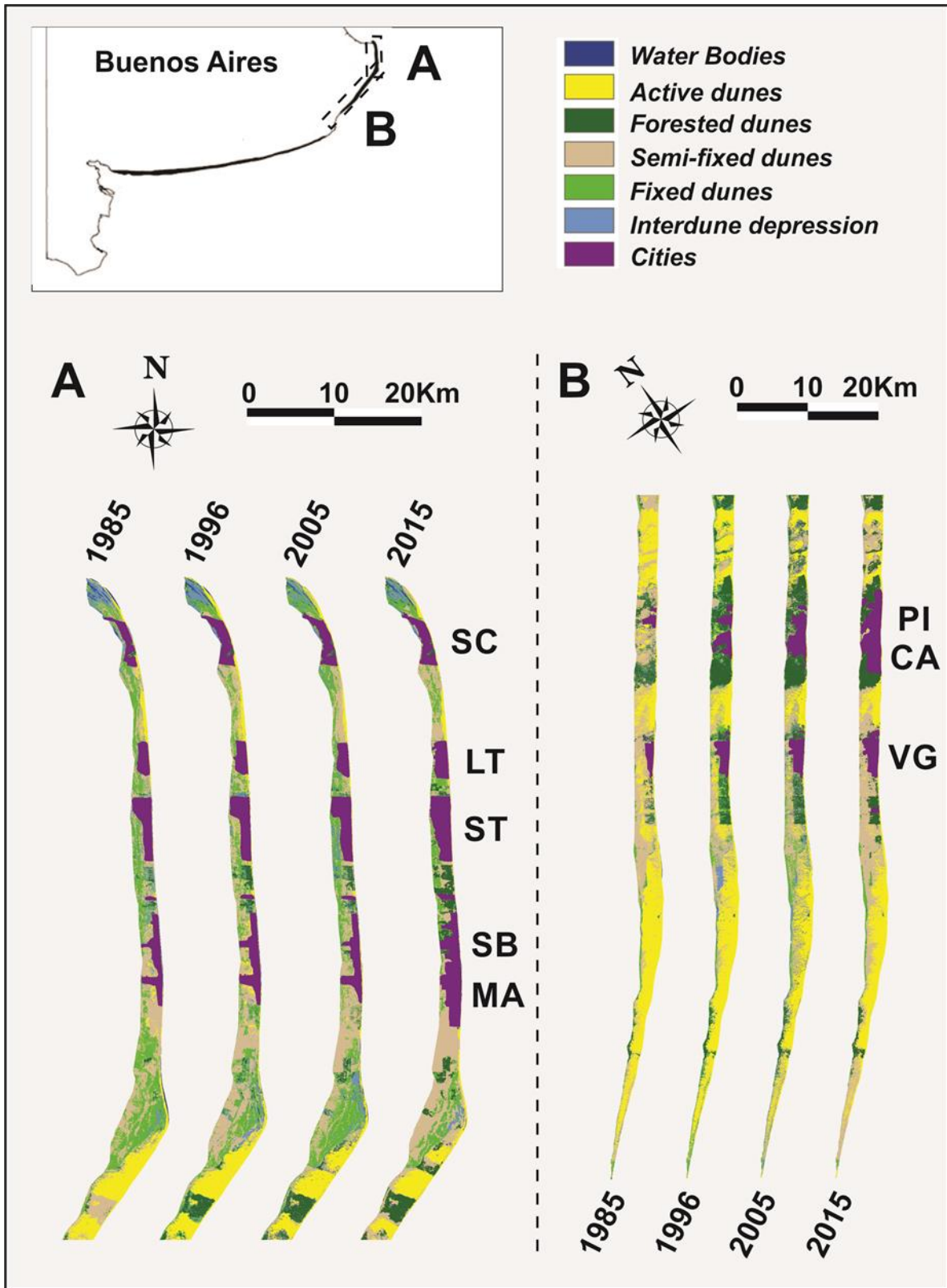
Anexo 1. Típicos ambientes de la región costera de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Cuerpos de Agua, Bajos Interdunales, Dunas Fijas, Dunas Forestadas, Dunas Semifijas, Dunas Vivas y Ciudades.



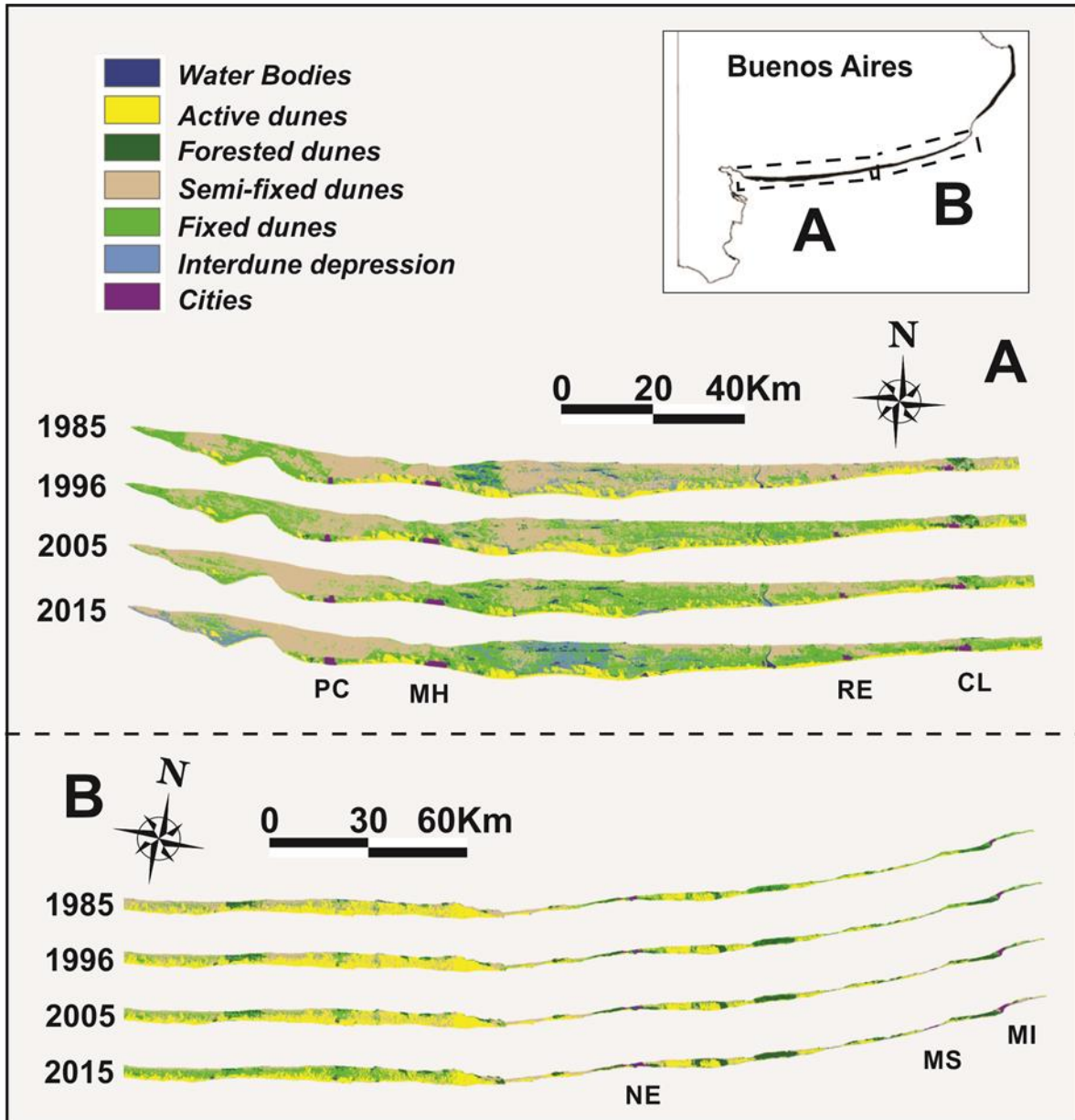
Anexo 2. Se detallan las exactitudes de las clasificaciones y los índices Kappa para cada uno de los hábitats de ambas barreras medanosas incluidos en el estudio.

	Clase de hábitat	Exactitud de la clasificación	Índice Kappa
BMA	Cuerpos de Agua	100 %	1
	Dunas Vivas	92.31 %	0.91
	Dunas Forestadas	100 %	1
	Dunas Semifijas	94.12 %	0.91
	Dunas Fijas	88.10 %	0.83
	Bajos Interdunales	93.75 %	0.93
BMO	Cuerpos de Agua	-	0
	Dunas Vivas	96.97 %	0.95
	Dunas Forestadas	100 %	1
	Dunas Semifijas	87.27 %	0.78
	Dunas Fijas	92.31 %	0.91
	Bajos Interdunales	100 %	1

Anexo 3. Mapas temáticos que muestran el cambio en la cobertura del suelo desde 1985 hasta 2015 correspondiente a la Barrera Medanososa Oriental. **SC** San Clemente del Tuyu, **LT** Las Toninas, **ST** Santa Teresita, **SB** San Bernardo, **MA** Mar de Ajó, **PI** Pinamar, **CA** Cariló y **VG** Villa Gesell.



Anexo 4. Mapas temáticos que muestran el cambio en la cobertura del suelo desde 1985 hasta 2015 correspondiente a la Barrera Medanosa Austral. **PC** Pehuén-Có, **MH** Monte Hermoso, **RE** Reta, **CL** Claromecó, **NE** Necochea, **MS** Mar del Sur, and **MI** Miramar.



Capítulo II

Redefiniendo la distribución geográfica de las especies de tuco-tucos en la costa bonaerense a partir de ADN mitocondrial

Resumen

Las dunas costeras del sureste de la provincia de Buenos Aires presentan distintas especies endémicas de tuco-tucos, siendo una de ellas *Ctenomys talarum* (tuco-tucos de los talaes), la cual habita pastizales naturales en sistemas de dunas costeras y en algunas poblaciones continentales altamente fragmentadas alejadas de la costa. Originalmente esta especie fue subdividida en dos subespecies diferentes (*Ctenomys talarum talarum* y *Ctenomys talarum resessus*), más que nada en base a criterios de distribución geográfica y variación a nivel del fenotipo y tamaño corporal. En este capítulo se discuten las relaciones filogenéticas de *C. talarum* en relación al resto de grupos filogenéticos del género *Ctenomys*, con énfasis en las poblaciones de tuco-tucos distribuidas entre la localidad de Pehuen-Có y la Balneario Sauce Grande, las cuales han sido previamente asignadas a la subespecie *C. talarum resessus*. Para este análisis se tomaron en cuenta poblaciones distribuidas en todo el rango de distribución de la especie en la región pampeana, tanto costera (por sobre las Barreras Medanosas Austral y Oriental) como continental (alejadas del frente costero). Para este enfoque se utilizó un fragmento completo de citocromo b (Cytb, 1140 pares de bases) y un fragmento parcial de la región control (D-loop, 426 pares de bases), ambos marcadores del ADN mitocondrial (ADNmt). Se incluyeron 28 especies de *Ctenomys* y octodóntidos como grupo externo. Las inferencias filogenéticas por Máxima Verosimilitud y Bayesiana realizadas con ambos marcadores de ADNmt, mostraron una divergencia superior al 6% entre el grupo de poblaciones distribuidas entre Pehuen Có y Sauce Grande, y el resto de las poblaciones de *C. talarum*. Además, el primer grupo presentó, a partir del citb, mayor afinidad filogenética con el clado de especies patagónicas conformado por *Ctenomys haigi* / *Ctenomys magellanicus* / *Ctenomys sericeus*, sugiriendo la necesidad de agregar un mayor número de marcadores al estudio. Concretamente, se observó mayor señal filogenética para el citocromo b que para la región control. En primer término, los

resultados del análisis filogenético de este capítulo no apoyan la división subespecífica dentro de *C. talarum*. Las poblaciones de *C. talarum* se incluyeron dentro de un mismo grupo monofilético. En general, el ADNmt no pudo discriminar entre las secuencias de *C. talarum* y *C. pundti*, sugiriendo la falta de monofilia recíproca para estas dos entidades putativas del grupo filogenético “*talarum*”. Por último, el conjunto de poblaciones del sector costero comprendido entre Pehuen Có y Sauce Grande claramente forman una nueva especie biológica, con gran distanciamiento genético con *C. talarum*.

Introducción

Previo al uso de las técnicas moleculares, las relaciones filogenéticas entre grupos de organismos se establecían mediante la observación de caracteres fenotípicos, lo cual ayudaba a crear árboles filogenéticos e inferir las relaciones evolutivas entre taxones. Originalmente, en la década de 1960, las especies de tuco-tucos se clasificaban mediante distintas técnicas, como el color del pelaje, por su morfología craneal y el tamaño corporal. Más adelante, se comenzó a utilizar otros métodos, como aquellos basados en frecuencias de alozimas (Sage et al. 1986), cariotipos (Reig y Kiblicky 1969), morfología peneana (Altuna y Lessa 1985; Balbontin et al. 1996), y morfología del esperma (Feito y Gallardo 1982). El primer estudio con un enfoque filogenético bien definido incluyó caracteres morfológicos y cariotípicos (Gardner 1990). Más adelante, se comenzaron a analizar secuencias del gen citocromo b del ADN mitocondrial (Cytb) en especies de Argentina, Brasil, Bolivia, Chile y Uruguay (Lessa y Cook 1998; D'Elía et al. 1999; Mascheretti et al. 2000; Slamovits et al. 2001). De este modo, a partir de estos nuevos abordajes filogenéticos moleculares, se encontró una politomía en la base del clado perteneciente a los tuco-tucos, reflejando dos posibles aspectos: por un lado, una rápida diversificación ocurrida dentro del género, y por otro, la falta de resolución en el gen Cytb para reconstruir las relaciones basales en dicho género.

Las filogenias moleculares realizadas en *Ctenomys* han permitido poner a prueba hipótesis sobre procesos de divergencia y especiación, intentando desentrañar las relaciones evolutivas complejas entre especies y grupos filogenéticos de este género de roedores subterráneos. En algunos casos, mediante estos abordajes moleculares, se ha logrado definir nuevas especies así como validar ciertas entidades clasificadas previamente por otros métodos, como caracteres morfológicos y cariotípicos (Parada et al. 2011; Freitas et al. 2012; Stolz et al. 2013; Gardner et al. 2014; Teta et al. 2018; Teta y D'Elía 2019, 2020; Teta et al. 2020; Carnovale 2020). El análisis filogenético más completo hasta el momento del género *Ctenomys* basado en secuencias de ADN mitocondrial del Cytb fue realizada por Parada et al. (2011), el cual abarcó un gran número de taxones en un contexto geográfico amplio. En este estudio, se analizaron las relaciones filogenéticas de 38 especies y 12 entidades no descritas, y se estimaron los tiempos de divergencia de los grupos filogenéticos conformados por dichas especies. Estos autores encontraron 8 grupos filogenéticos bien diferenciados: *boliviensis*, *frater*, *mendocinus*, *opimus*, *magellanicus*, *talarum*, *torquatus* y *tucumanus*. Gran parte de estos mismos grupos ya habían sido propuestos anteriormente por Contreras y Bidau (1999).

De todos modos, y a pesar de implementar secuencias del citocromo b, algunas relaciones filogenéticas dentro del género *Ctenomys* permanecen poco resueltas. Esto podría deberse tanto a una descripción incompleta de su diversidad alfa, como al desconocimiento del proceso de diversificación (Parada et al. 2011).

Actualmente, *Ctenomys* es el género de roedores subterráneos con mayor cantidad de especies conocidas (Reig et al. 1990; Cook y Lessa 1998; Lessa y Cook 1998; Castillo et al. 2005). Se han reportado aproximadamente 60 especies vivientes reconocidas en la actualidad (Woods y Kilpatrick 2005). Pese a ello, en los últimos años este número se ha incrementado sustancialmente (alrededor de 70 especies reportadas; Parada et al. 2011; Teta y D'Elía 2020; Teta et al. 2020). Los trabajos más actualizados que dan cuenta del número de especies en el género son los de Patton et al. (2015), Freitas (2016), Teta y D'Elía (2020) y Teta et al. (2020), incrementando el número de especies del género, en especial en los grupos filogenéticos "*magellanicus*", "*boliviensis*", "*torquatus*", "*corrientes*" y el llamado *C. pearsoni complex* (Parada et al. 2011; Leipnitz et al. 2018). Algunos autores sugieren que la gran diversidad observada en este género, es explicada por un rápido proceso de especiación ocurrido en el Plioceno tardío (Verzi et al. 2010). De hecho, la familia Ctenomyidae es registrada primariamente en el Mioceno tardío, luego de lo cual se observa un decrecimiento del número de géneros hasta finales del Plioceno, en donde se observa a *Ctenomys* como único género sobreviviente (Verzi et al. 2010). El Pleistoceno constituyó un período en donde el género *Ctenomys* sufre un aumento progresivo en la riqueza de especies (Reig et al. 1990; Verzi 2008), la cual parece haberse mantenido hasta la actualidad. *Ctenomys* es el único género viviente de la familia Ctenomyidae, cuyos taxones vivos muestran diferentes comportamientos asociados a la vida subterránea en comparación a los extintos (Fernández et al. 2000; Verzi et al. 2006; Lessa et al. 2008; Becerra et al. 2013).

Uno de los grupos mejor establecidos en los análisis filogenéticos dentro de *Ctenomys* es el "grupo talarum", anteriormente llamado "complejo *Ctenomys pundti*" por Tiranti et al. (2005) (Mora et al. 2007; Parada et al. 2011); este grupo incluye dos especies: *Ctenomys talarum* (tucu-tuco de los Talas, Thomas 1898) y *Ctenomys pundti* (tucu-tuco de Pundti, Nehring 1920). Parada et al. (2011) plantearon algunas inconsistencias respecto a estas dos especies, sugiriendo que *C. talarum* y *C. pundti* probablemente no deban ser consideradas como dos especies diferentes. Estos autores sugirieron evaluar los límites de estas especies dentro de este grupo filogenético, combinando más especímenes y poblaciones, caracteres morfológicos y secuencias de

ADN nuclear. En un estudio de mayor amplitud en cuanto a muestras poblacionales y abordaje geográfico, Carnovale (2020) sugiere, a partir del análisis filogenético de dos fragmentos mitocondriales (Región Control y citocromo b completos), que las especies nominales *Ctenomys talarum* y *C. pundti* no presentan monofilia recíproca. Esta última condición, y el hecho de que algunas poblaciones compartan haplotipos mitocondriales, sugieren que posiblemente ambas entidades debieran ser consideradas como la misma especie biológica, sin descartar la posibilidad de reparto incompleto de linajes y/o de retención de polimorfismos ancestrales en haplotipos actuales.

Originalmente, se sugirió que *C. talarum* estaba representado por entidades de dos subespecies, *Ctenomys talarum talarum* (Thomas 1898), presente al norte del rango de distribución, y *Ctenomys talarum resessus* (Thomas 1912), presente al sur de la distribución costera, entre Necochea y Bahía Blanca. Mora et al. (2007, 2013) y Cutrera y Mora (2017), usando secuencias del ADNmt y del ADNn de MHC (intrón DRB), respectivamente, sugirieron excluir la distribución de *C. talarum* de la zona costera entre Monte Hermoso y Pehuen Có (Fig.1). Para estos autores, los tuco-tucos pertenecientes a esta área de distribución presentan un gran distanciamiento a nivel genético con respecto a individuos muestreados en otras poblaciones de *C. talarum*, constituyendo más probablemente una nueva entidad taxonómica de *Ctenomys* aún no descrita formalmente. Además, los trabajos de estos autores no apoyan la división subespecífica entre *C. talarum talarum* y *C. talarum resessus*, sugiriendo que pese al alto grado de aislamiento y fragmentación actual de las poblaciones en la región pampeana de la Argentina, las mismas deberían ser consideradas como *C. talarum*.

Como la mayoría de las especies de este género, *C. talarum* muestra una cierta especificidad de hábitat (Busch et al. 2000), ocupando tanto hábitats de dunas costeras, como zonas alejadas de la costa con suelos cada vez más duros, húmedos y con mayor grado de cobertura vegetal (Malizia et al. 1991; Vassallo 1993, 1998; Mora et al. 2007). A lo largo de la costa, sobre las Barreras Medanosas Austral y Oriental, la especie se distribuye de manera unidimensional, restringiendo el flujo génico entre las poblaciones de *C. talarum* (Mora et al. 2007, 2013). Además, su distribución costera se ve interrumpida por algunas barreras potenciales como ríos y, en los últimos tiempos, urbanizaciones y forestaciones (ver Capítulo I). Sin embargo, actualmente se desconoce si estas poblaciones están conectadas por el flujo génico. Mora et al. (2007) reportaron bajas densidades y muy bajos tamaños efectivos poblaciones en algunos sectores de la distribución sur de esta especie (por ejemplo entre Claromecó y el Balneario Reta).

Además, las poblaciones más continentales y alejadas de los sectores costeros se encuentran naturalmente fragmentadas y, en los últimos años, el grado de fragmentación ha aumentado notablemente en asociación con la expansión del cultivo de soja en la región (Mapelli y Kittlein 2009). Estas poblaciones continentales alejadas de la costa también se caracterizan por densidades poblacionales muy bajas, si se las compara con sus contrapartes costeras (Mora et al. 2013).

El objetivo de este estudio es 1) evaluar las relaciones filogenéticas entre especímenes originalmente asignados a *C. talarum*, una especie que tiene una asociación cercana principalmente con hábitats costeros, 2) en base a lo analizado, redefinir los límites de distribución de las especies de tuco-tucos presentes en la Barrera Medana Austral, y 3) explorar las relaciones filogenéticas entre *C. talarum* y las otras especies del género. En consecuencia, se discute las relaciones filogenéticas de *C. talarum* con énfasis en las poblaciones costeras ubicadas entre el Balneario Sauce Grande y el Balneario Pehuen Có (Fig. 1).



Figura 1. Se muestran las localidades muestreadas y las distribuciones geográficas de las especies de tuco-tucos que cohabitan la Barrera Medanosa Austral; *C. talarum* (triángulos rojos, líneas gris oscuro), *C. australis* (triángulos azules, línea negra), y la entidad sugerida como nueva forma específica (triángulos amarillos, línea gris claro). **S**, Saladillo; **EP**, Lago Epecuén; **CSZ**, Coronel Suarez; **TOR**, Tornquist; **ELP**, Ea. La Paloma; **SCH**, Arroyo Sauce Chico; **BB**, Bahía Blanca; **VdM**, Villa del Mar; **CO**, Campo Olivos; **CTM**, Campo Tres Marías; **PCO**, Pehuen C6; **MH**, Monte Hermoso; **O**, Oriente; **RQS**, R6o Quequ6n Salado; **R**, Reta; **SC**, San Cayetano; **LA**, Balneario Los 6ngeles; **N**, Necochea; **MC**, Mar de Cobo; **PM**, Punta M6danos; **SCL**, San Clemente del Tuy6; **CG**, Cerro de la Gloria; **PI**, Punta Indio; **ED**, Ea. El Destino.

Materiales y M6todos

Obtenci6n de muestras

Se llev6 a cabo un muestreo de individuos de *C. talarum*, y de individuos pertenecientes a la entidad sugerida como una nueva especie, a lo largo del ambiente de dunas costeras ubicados en ambas barreras medanosas (Austral y Oriental), as6 como en 6reas interiores de la provincia alejadas de la costa (Tabla 1). Espec6ficamente, el muestreo se realiz6 entre el a6o 2012 y 2017 en sitios ubicados entre las localidades de Necochea (38°37'S, 58°50'O) y Bah6a Blanca (39°30'S, 61°40'O) sobre la Barrera Medanosa Austral, y entre Magdalena (35°04'S, 57°30'O) y Mar de Cobo (37°46'S, 57°27'O), sobre la Barrera Medanosa Oriental; tambi6n se muestrearon individuos de poblaciones relictuales ubicadas en Sierra de la Ventana (38°03'S, 62°15'O), Saladillo (35°34'S, 59°39'O), Coronel Suarez (37°26'S, 61°52'O), etc. (ver Fig. 1). Las capturas se realizaron con trampas de captura viva Oneida Victor N°0 (Oneida Victor, Eastlane, Ohio), con una protecci6n de goma con el fin de evitar da6os sobre los individuos. La posici6n espacial de las capturas fue registrada con un GPS. Se obtuvieron muestras de tejido mediante la amputaci6n de la primera falange de un dedo de una de las patas posteriores, o bien del extremo de la cola (la experiencia indica que este procedimiento no afecta ni la supervivencia ni el desempe6o en la excavaci6n de los mismos). Las muestras fueron preservadas en etanol al 95 % para las subsecuentes extracciones de ADN y an6lisis gen6ticos. Luego de la toma de tejido para los an6lisis gen6ticos, cada individuo fue liberado dentro del mismo sistema de galer6a en el que hab6a sido capturado. El tratamiento de los individuos se realiz6 teniendo en cuenta las pautas de la "American Society of Mammalogists (Sikes et al. 2016)".

Tabla 1. Localidades de las cuales se obtuvieron secuencias de ADN para ambos marcadores. Cada una de ellas se presenta con su nombre abreviado y el número de secuencias obtenidas para cada marcador.

Localidad	Nombre Abreviado	Cytb	D-loop
Saladillo	S	2	2
Lago Epecuén	EP	3	5
Coronel Suarez	CSZ	-	12
Tornquist	TOR	5	13
Estancia La Paloma	ELP	5	11
Arroyo Sauce Chico	SCH	5	5
Bahía Blanca	BB	2	6
Villa del Mar	VdM	-	3
Campo Olivos	CO	-	4
Campo Tres Marías	CTM	-	3
Pehuen Có	PCO	5	13
Monte Hermoso	MH	3	12
Oriente	O	3	3
Río Quequén Salado	RQS	4	7
Reta	R	6	22
San Cayetano	SC	5	9
Balneario Los Ángeles	LA	-	3
Necochea	N	5	5
Mar de Cobo	MC	5	17
Punta Médanos	PM	5	10
San Clemente del Tuyú	SCL	5	13
Cerro de la Gloria	CG	5	13
Punta Indio	PI	5	18
Estancia El Destino	ED	5	5
Ruta 3	Ruta 3	-	2

Extracción de ADN, amplificación y secuenciación

La extracción de ADN fue realizada a través del protocolo con CTAB (Doyle y Doyle 1987). Estas muestras de ADN fueron almacenadas en freezer a -20°C.

Para la amplificación del locus de *Cytb* completo (1140 pb) se utilizaron dos pares de oligonucleótidos (*forward* y *reverse* en ambos casos): MVZ 05 (5'- CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT - 3') /TUCO 06 (5'- GTG AAA TGG AAT TTT GTC TGA - 3') y TUCO 07 (5'- ATT ACA GCA ATA GTA ATA AT - 3')/ TUCO14 (5'- CCA ATG TAA TTT TTA TAC - 3') (Smith y Patton 1999; Wlasiuk et al. 2003).

Para la amplificación del fragmento hipervariable 5' de la región control mitocondrial (D-loop) se utilizó un único par de oligonucleótido: TucoPro (5'-TTC TAA TTA AAC TAT TTC TTG-3') y TDKD (5'-CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG-3'), *forward* y *reverse* respectivamente (Tomasco y Lessa 2007; Kocher et al. 1989).

Estas amplificaciones se llevaron a cabo mediante el método de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), preparada en un volumen final de 20 µl, conteniendo 25-100 ng de ADN, 1,5 mM de cloruro de magnesio, 0,2 µM de cada oligonucleótido, 0,2 mM de dNTPs, 24 buffer de reacción 1X, 0,5U de Taq T-Plus DNA polimerasa (INBIO) y agua estéril ultrapura. Las condiciones de amplificación fueron: desnaturalización a 94°C por 5 minutos, seguido por 34 ciclos, cada uno contando con una fase de desnaturalización a 94°C durante 45 segundos, una de ligado del primer al ADN molde (*annealing*) a 47°C por 45 segundos para todos los fragmentos por igual y una fase de extensión a 74°C por 45 segundos para *Cytb* y 1 minuto para D-loop; seguido de 5 minutos a 74°C para una extensión final y 10 minutos a 4°C. Se incluyeron controles negativos en todas las PCR. Los productos amplificados fueron purificados y secuenciados en Macrogen Inc. (Seoul, South Korea).

Todas las secuencias obtenidas del gen del citocromo b (*Cytb*) y de la región control (D-loop) del ADN mitocondrial, fueron editadas y alineadas mediante el algoritmo Clustal W en el programa MEGA7 (Sudhir et al. 2015).

Calibración del árbol dentro de Caviomorpha y estimación de tasas de sustitución del *Cytb* y Región Control del ADNmt.

Las secuencias del *Cytb* empleadas para la calibración del árbol de Caviomorpha fueron completas (1140 pb), mientras que las secuencias de D-loop constaron de 433 pares de bases. Las secuencias del *Cytb* fueron analizadas mediante el programa DnaSP 5.0 (Librado y Rozas 2009), corroborando la ausencia de codones stop, deleciones o

inserciones. Para ambos fragmentos mitocondriales se analizó la posibilidad de saturación a partir del test de Xia et al. (2003) y utilizando el programa DAMBE (Xia y Xie 2001). Con este test se estima un índice de saturación de las secuencias (Iss), el cual es comparado con un índice de saturación crítico estimado (Iss.c). Si el Iss observado es significativamente menor que el Iss estimado (Iss.c), entonces las secuencias son aptas para un estudio filogenético.

A partir del programa jModelTest (Posada 2008) se seleccionó el modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajusta a los datos de secuencias de ambos loci (Cytb y D-loop). Dichos modelos fueron seleccionados a partir de los 56 modelos posibles que arroja el programa mediante el criterio de información de Akaike corregido para muestras pequeñas (AICc).

Con el fin de obtener una estimación lo suficientemente ajustada de las tasas de sustitución nucleotídica de los genes Cytb y D-loop, los tiempos de divergencia del ancestro común más cercano de Ctenomyidae, de Octodontidae, y del grupo conformado por Ctenomyidae + Octodontidae, se realizó una primera aproximación filogenética considerando especies incluidas dentro del Parvorden Caviomorpha. Con el uso del software BEAST 2.5.2 (Bouckaert et al. 2019) se realizaron inferencias bayesianas para la obtención de dos árboles con múltiples puntos de calibración, uno construido a partir de Cytb y otro a partir de D-loop (Tabla 2; Fig. 2). El árbol de Cytb incluyó 92 especies de Caviomorpha, incluyendo representantes de las familias Echimyidae (*Dactylomys boliviensis*, *Echymys chrysurus* y *Lonchothrix emiliae*), Capromyidae (*Capromys pilorides*, *Mesocapromys auritus*), Octodontidae (*Octodontomys gliroides*, *Spalacopus* sp., *Tympanoctomys* sp., *Octodon* sp. y *Aconaemys* sp.), Dasyproctidae (*Myoprocta acouchy*, *Dasyprocta leporina* y *Dasyprocta fuliginosa*), Caviidae (*Cavia tschudii*, *Galea musteloides*, *Dolichotis patagonum*, *Hydrochoerus hydrochaeris* y *Microcavia niata*), y 74 secuencias del género *Ctenomys* (ver Anexo 1 con códigos de Genbank y secuencias exclusivas de esta Tesis). El árbol de D-loop incluyó 59 especies de Caviomorpha, incluyendo representantes de las familias Echimyidae (*Dactylomys dactylinus*, *Echymys chrysurus* y *Lonchothrix emiliae*), Capromyidae (*Capromys pilorides*, *Mesocapromys melanurus*), Octodontidae (*Octodontomys gliroides*, *Spalacopus* sp., *Tympanoctomys* sp. y *Octodon* sp.), Dasyproctidae (*Myoprocta acouchy*, *Dasyprocta leporina* y *Dasyprocta fuliginosa*), Caviidae (*Cavia aperea*), y 46 especies del género *Ctenomys* (ver Anexo 1 con códigos de Genbank y secuencias exclusivas de esta Tesis). Para calibrar ambos árboles dentro de Caviomorpha se utilizó el modelo de reloj *lognormal* relajado y una tasa

de ramificación *calibrated birth-death* (Heled y Drummond 2014). Los tiempos de divergencia en cada uno de los nodos calibrados y su correspondiente distribución considerados en esta primera aproximación, fueron extrapolados de datos de bibliografía (ver Tabla 2). A partir de estos datos, y con el uso del BEAST 2.5.2, se recalcularon las tasas mutacionales del Cytb y D-loop, y los tiempos de divergencia para los nodos Octodontidae/Ctenomyidae, Ctenomyidae y Octodontidae, los cuales son usados para los análisis filogenéticos posteriores, en una segunda aproximación. Para esta primera aproximación filogenética dentro de Caviomorpha se ejecutaron, para cada marcador molecular, dos corridas independientes de 3×10^7 generaciones MCMC (*Markov chain Monte Carlo*), tomando muestras cada 3000 generaciones. Se usó el programa Tracer 1.7.1 (Rambaut et al. 2018) para examinar la convergencia de la distribución posterior de los parámetros de cada corrida individual. Mediante el programa LogCombiner 2.5.2 se combinaron, para cada marcador molecular, los archivos log, y así poder examinar nuevamente la convergencia de la distribución posterior de los parámetros a partir de un único archivo log, y los archivos tree de ambas corridas independientes, unificando así los mismos. Los árboles finales de cada marcador molecular se resumieron con la opción de Máxima Credibilidad del Clado (MCC) usando el programa TreeAnnotator 2.5.2 (Bouckaert et al. 2019), a partir de un “burn-in” del 50% de los árboles, y con la estimación de los parámetros a partir del 50% de los últimos árboles correspondiente a 10.000 árboles. Los árboles de máxima credibilidad fueron visualizados en el programa FigTree 1.4.4 (Rambaut 2018).

Tabla 2. Puntos de calibración utilizados en la filogenia dentro de Caviomorpha (A-E). Se muestran los nodos a calibrar, las edades expresadas en millones de años (MA), la distribución empleada y las referencias correspondientes.

Punto	Nodo	MA	Distribución	Referencia
A	Origen Caviomorpha	33,8 ± 1,8	normal	Vucetich et al. (1999); Opazo (2005)
B	Origen Cavoidea	27,9 ± 2,4	normal	Opazo (2005)
C	Origen Octodontidae/Ctenomyidae	15 ± 2,1	normal	Opazo (2005)
D	Origen Caviidae	18,5 ± 2,5	normal	Opazo (2005)
E	Origen Octodontidae	7,79 ± 1,5	normal	Opazo (2005)

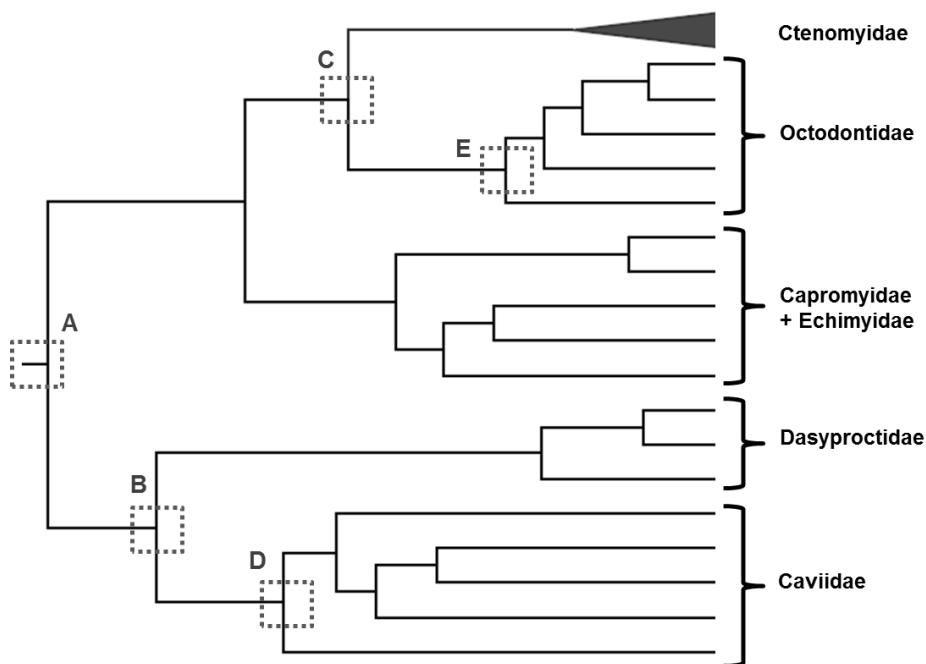


Figura 2. Árbol filogenético que muestra la disposición de los nodos, con sus respectivas familias, para calibrar el árbol de Caviomorpha.

Análisis filogenético de Ctenomyidae con Cytb y la Región Control del ADNmt

Para el análisis filogenético de Ctenomyidae se utilizaron 158 secuencias completas (153 de especies de ctenómidos, más de una secuencia por especie, y 5 de octodóntidos) del gen mitocondrial Cytb (1140 pb), y 251 secuencias (248 de especies de ctenómidos y 3 de octodóntidos) de la región parcial D-loop (426 pb). Las secuencias del Cytb fueron analizadas mediante el programa DnaSP 5.0 (Librado y Rozas 2009), corroborando la ausencia de codones stop, deleciones o inserciones. Las especies nominales del género *Ctenomys* correspondientes al locus del Cytb fueron 41, mientras que para el locus D-loop fueron 29; las formas indeterminadas (individuos colectados entre Sauce Grande y Pehuen C6) usadas para ambos loci fueron de 8 y 28 para Cytb y D-loop, respectivamente. Las secuencias utilizadas para ambos loci pertenecen a las poblaciones estudiadas, como a secuencias pertenecientes a especies del género *Ctenomys* y a especies que conformaron el grupo externo incluidas de la base de datos GenBank (Anexo 2).

Las reconstrucciones filogenéticas se llevaron a cabo por el método de Máxima Verosimilitud (MV) y por inferencia Bayesiana (IB). Para el método de MV se empleó el programa MEGA7, tanto para las secuencias de Cytb como D-loop, considerando el mejor modelo de sustitución nucleotídica para cada paquete de secuencias, el cual fue inferido previamente a partir del jModelTest. La relación entre transiciones y transversiones y la distribución del parámetro gamma fue estimada empíricamente. El soporte de los clados se evaluó mediante 1.000 réplicas de Bootstrap.

Las IBs para ambos fragmentos mitocondriales fueron realizadas con el programa BEAST 1.8. En una etapa previa al análisis filogenético se realizó una prueba de saturación de ambos marcadores mediante el test de Xia et al. (2003), disponible en el programa DAMBE. El Cytb fue analizado en dos particiones diferentes, Cytb primera y segunda posición de codón, y Cytb tercera posición de codón. El D-loop fue analizado completo. Las estimaciones de los mejores modelos de sustitución nucleotídica para ambos marcadores se realizaron con jModelTest. Nuevamente, el Cytb fue analizado en dos particiones diferentes, Cytb primera y segunda posición de codón, y Cytb tercera posición de codón, mientras que el D-loop fue analizado completo.

Las inferencias de los dos árboles bayesianos para Ctenomyidae y Octodontidae, se realizaron a partir de los datos de tres puntos de calibración extraídos de las filogenias calibradas para Caviomorpha con Cytb y D-loop. Se utilizó la distribución normal para los puntos de calibración, y se forzó monofilia para cada uno de estos tres nodos, dejando

libres los clados/especies dentro de *Ctenomys*. Para las reconstrucciones filogenéticas con Cytb y D-loop, se utilizaron las tasas de mutación obtenidas a partir de las calibraciones de las filogenias de Caviomorpha para ambos marcadores. Para ambos árboles bayesianos, con Cytb y D-loop, se aplicó un modelo de reloj *lognormal* relajado y una tasa de ramificación *calibrated birth-death* (Heled y Drummond 2014). Para cada set de datos (Cytb y D-loop) se ejecutaron dos corridas independientes de 3×10^7 generaciones MCMC (*Markov chain Monte Carlo*), tomando muestras cada 3.000 generaciones, generando de esta forma estimaciones de parámetros (probabilidad posterior) para 10.000 árboles totales. Se usó el programa Tracer 1.7.1 para examinar los valores de distribución posterior de cada uno de los parámetros estimados, para asegurarse de que el ESS (valores de tamaño de muestra efectivo) estuviera por encima de 200, y para corroborar la convergencia de cada corrida individual. Mediante el programa LogCombiner 2.5.2 se combinaron los archivos log y tree de ambas corridas independientes, unificando así los archivos. Se evaluó la convergencia de las cadenas en el archivo resultante de la combinación de los dos archivos log. Luego, los árboles finales (combinado los dos archivos tree) se resumieron con la opción de Máxima Credibilidad del Clado (MCC) usando el programa TreeAnnotator 2.5.2, descartado el 50% (10.000 árboles) de los primeros árboles como “burn-in”. Finalmente el árbol de Máxima Credibilidad para cada uno de los marcadores moleculares fue visualizado y editado con el programa FigTree 1.4.4 (Rambaut 2018).

Resultados

Árboles calibrados dentro de Caviomorpha y estimación de las tasas de sustitución del Cytb y Región Control del ADNmt

El test de Xia reveló que no existe saturación de sustituciones en el alineamiento del Cytb (Anexo 3). Sin embargo, para el alineamiento de D-loop sí se detectó saturación de sustituciones en el OTU 32, donde el valor de I_{ss} es mayor al valor de I_{ssAsym} (Anexo 3). El modelo de sustitución nucleotídica que mejor se ajustó a los datos de secuencias del Cytb estimado con el jModelTest, y elegido mediante el criterio de información de Akaike (AICc), fue el HKY+G+I. Mientras que para las secuencias de D-loop, el mejor modelo fue GTR+G.

Los árboles resultantes con las relaciones filogenéticas entre las diferentes familias de caviomorfos, para ambos marcadores moleculares, se muestran en la Figura 3 (ver Anexo 4 para más detalles). Las salidas de los árboles del Cytb y D-loop

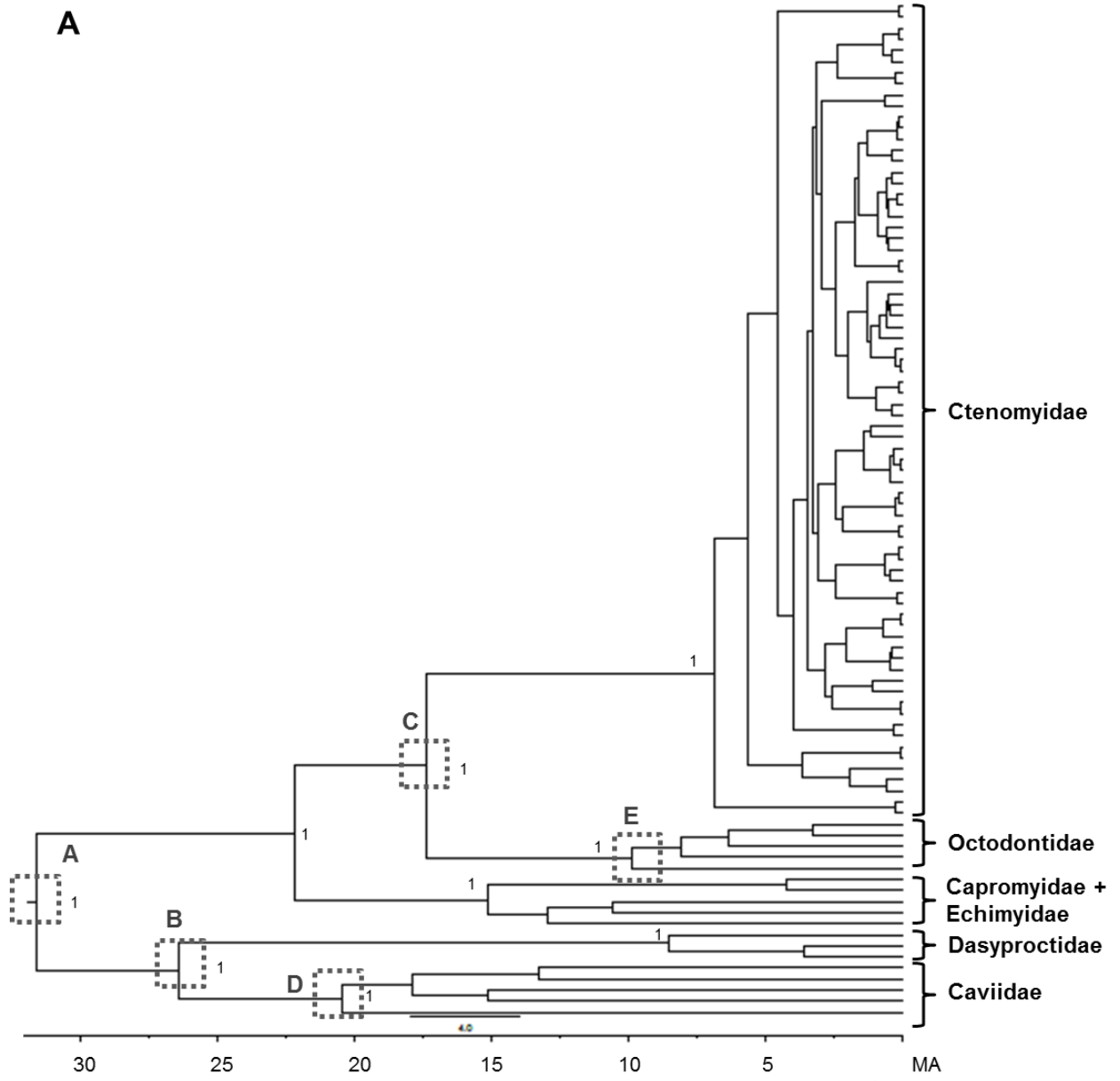
visualizadas en el programa Tracer 1.7.1 mostraron muy buena convergencia. La estimación de la tasa de mutación por sitio por millón de años para el Cytb es de 0,0167 (DE: 0,00007) con un intervalo de credibilidad del 95% (95% HPD interval) entre 0,0138 y 0,0196. Para el D-loop, la tasa de mutación es de 0,0179 (DE: 0,0001) con un intervalo de credibilidad del 95% (95% HPD interval) entre 0,0114 y 0,0251.

Los tiempos de divergencia de cada uno de los nodos para los árboles calibrados de Caviomorpha (Cytb y D-loop) se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Tiempos al ancestro común más cercano (tMRCA) para los diferentes grupos taxonómicos (nodos) evaluados en las filogenias calibradas a partir del Cytb y D-loop. De forma comparativa se muestran los resultados del trabajo de Carnovale (2020) para la calibración de Caviomorpha con Cytb.

Nodos	Cytb		D-loop		Cytb (Carnovale 2020)	
	tMRCA (MA)	IC (95%)	tMRCA (MA)	IC (95%)	tMRCA (MA)	IC (95%)
Origen Caviomorpha	31,57	[28,45; 34,69]	31,47	[29,50; 33,33]	32,4	[29,2; 35,6]
Origen Cavoidea	26,40	[23,09; 29,89]	26,81	[24,88; 28,71]	26,9	[24,2; 29,6]
Divergencia Ctenomyidae/Octodontidae	17,32	[14,49; 20,08]	16,9	[14,97; 18,81]	15,2	[12,5; 17,8]
Origen Caviidae	20,42	[17,15; 23,71]			13,6	[12; 15,4]
Origen Octodontidae	9,87	[8,05; 11,73]	9,54	[7,63; 11,44]	8,3	[6,8; 9,7]
Origen Ctenomyidae	6,86	[5,12; 8,62]	5,21	[2,71; 8,83]	6,6	[4,7; 8,7]

A



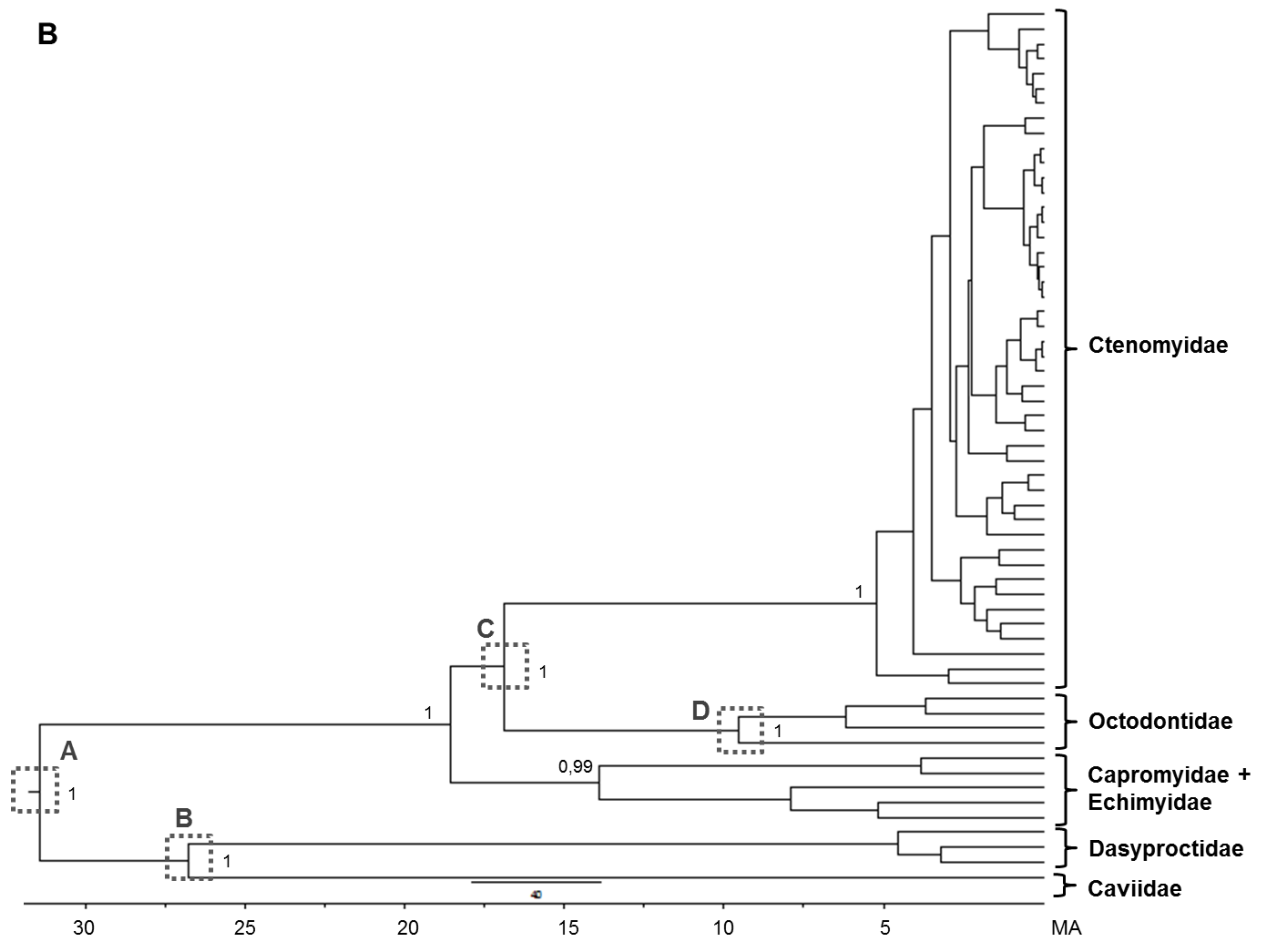


Figura 3. Relaciones filogenéticas entre diferentes grupos dentro de Caviomorpha obtenidas a partir del Cytb (**A**) y D-loop (**B**). Las letras corresponden a los nodos de los cuales se han obtenido las estimaciones de los tiempos de divergencia al ancestro común más cercano a partir de la calibración del árbol de caviomorfos correspondiente a cada marcador. Se muestra la probabilidad posterior de cada uno de los nodos, y la escala de tiempo en millones de años (MA), desde el presente hacia el pasado. **A)** A, Origen Caviomorpha; B, Origen Caviioidea; C, Origen Octodontidae/Ctenomyidae; D, Origen Caviidae; E, Origen Octodontidae. **B)** A, Origen Caviomorpha; B, Origen Caviioidea; C, Origen Octodontidae/Ctenomyidae; D, Origen Octodontidae.

Análisis filogenético de Ctenomyidae con Cytb y la Región Control del ADNmt

El test de Xia reveló que no existe saturación de sustituciones en ninguna de las dos particiones del Cytb, ni en el alineamiento del D-loop (Anexo 3). Los modelos de sustitución nucleotídica que mejor se ajustaron a los datos de secuencias de ambos marcadores estimados con jModelTest, y elegido mediante el criterio de información de

Akaike (AICc), fueron: HKY+G+I para la primera y segunda partición del Cytb, HKY+G para la tercera partición del Cytb, y HKY+G para el D-loop.

Utilizando los tiempos de divergencia de Octodontidae y Octodontidae/Ctenomyidae (Tabla 3), junto a las tasas de sustitución obtenidas para el Cytb y D-loop a partir de las filogenias calibradas de Caviomorpha, se realizaron los nuevos análisis filogenéticos para ambos marcadores. Para este caso se consideró sólo las especies pertenecientes al género *Ctenomys*, incluyendo a las poblaciones de estudio, y unas pocas especies pertenecientes a la familia Octodontidae como grupo externo.

En los árboles filogenéticos construidos con Cytb, tanto el de IB como MV, se observó una dicotomía en la base, presentándose *C. sociabilis* como especie basal del clado *Ctenomys* (Figs. 4 y 5). Por otro lado, en los árboles filogenéticos construidos con D-loop, tanto el de IB como MV, se observó una dicotomía diferente en la base, presentándose *C. sociabilis*, *C. frater* y *C. conoveri* como especies basales en el clado que agrupa todas las especies de *Ctenomys* (Figs. 6 y 7).

En ambos árboles generados a partir de Cytb (IB y MV), se conformaron los ocho grupos filogenéticos reportados en Parada et al. (2011) y en Leipnitz et al. (2018), los cuales fueron reconstruidos a partir del Cytb: grupo *opimus*, *mendocinus*, *talarum*, *torquatus*, *magellanicus*, *tucumanus*, *boliviensis* y *frater* (Figs. 4 y 5). La mayoría de estos clados estuvieron sustentados por altos valores de probabilidad posterior en el análisis bayesiano. Se observó una inconsistencia para el grupo *magellanicus*, el cual se dividió en dos subclados; uno de ellos, conformado por *C. magellanicus* y *C. colburni*, es hermano del clado perteneciente a *Ctenomys* sp. En el árbol obtenido por el método MV, el grupo *magellanicus* presenta un bajo soporte de nodo (<50%).

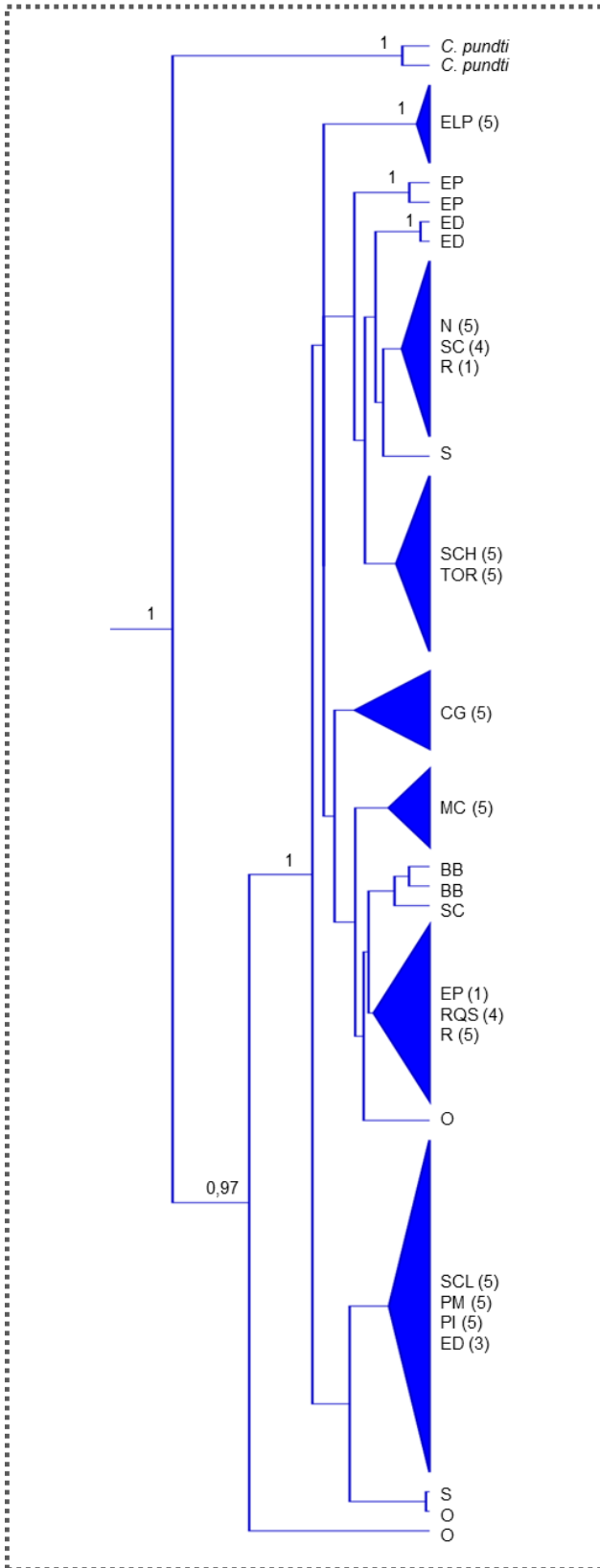
A partir de los árboles obtenidos con D-loop se observaron inconsistencias entre ambos métodos (Figs. 6 y 7), presentando en varios nodos bajos valores de bootstrap. A pesar de que las especies analizadas con este marcador molecular no fueron exactamente las mismas que las analizadas para el Cytb, ninguno de los dos árboles presentó similitudes en cuanto a los clados conformados con el de Parada et al. (2011) y Leipnitz et al. (2018).

A pesar de las diferencias encontradas entre los distintos árboles, se recalca la existencia de tres linajes distintivos en la Barrera Medanosas Austral, mostrando a *C. talarum*, *C. australis* y *Ctenomys* sp. como tres especies claramente diferentes, cada una formando parte de un grupo filogenético particular. Estos resultados permiten clarificar los límites de distribución para estas especies: *C. australis*, presente desde Necochea hasta

Pehuen C3 (39°0'S, 61°36'O); *C. talarum*, con distribuci3n disyunta desde Necochea hasta el R3o Quequ3n Salado (38°54'S, 60°30'O), reapareciendo desde Punta Alta hasta Bah3a Blanca, donde remonta por los Arroyos Napost3 Grande y Sauce Chico hasta Sierra de la Ventana, apareciendo tambi3n en varios sitios de La Pampa y Buenos Aires en forma de poblaciones relictuales de baja densidad poblacional; y *Ctenomys* sp., que se distribuye desde el margen occidental del R3o Sauce Grande (38°59'S, 61°7'O) hasta Campo Tres Mar3as al oeste de Pehuen C3, presentando una posible zona de contacto con *C. talarum*, la cual es registrada a 5 km de Campo Tres Mar3as.



Grupo *talarum*



Ctenomys sp.

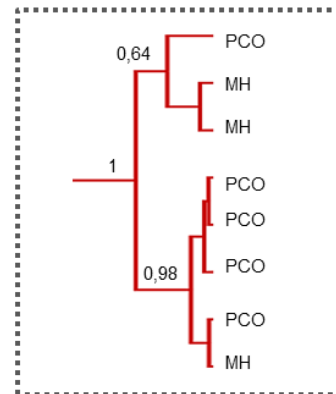
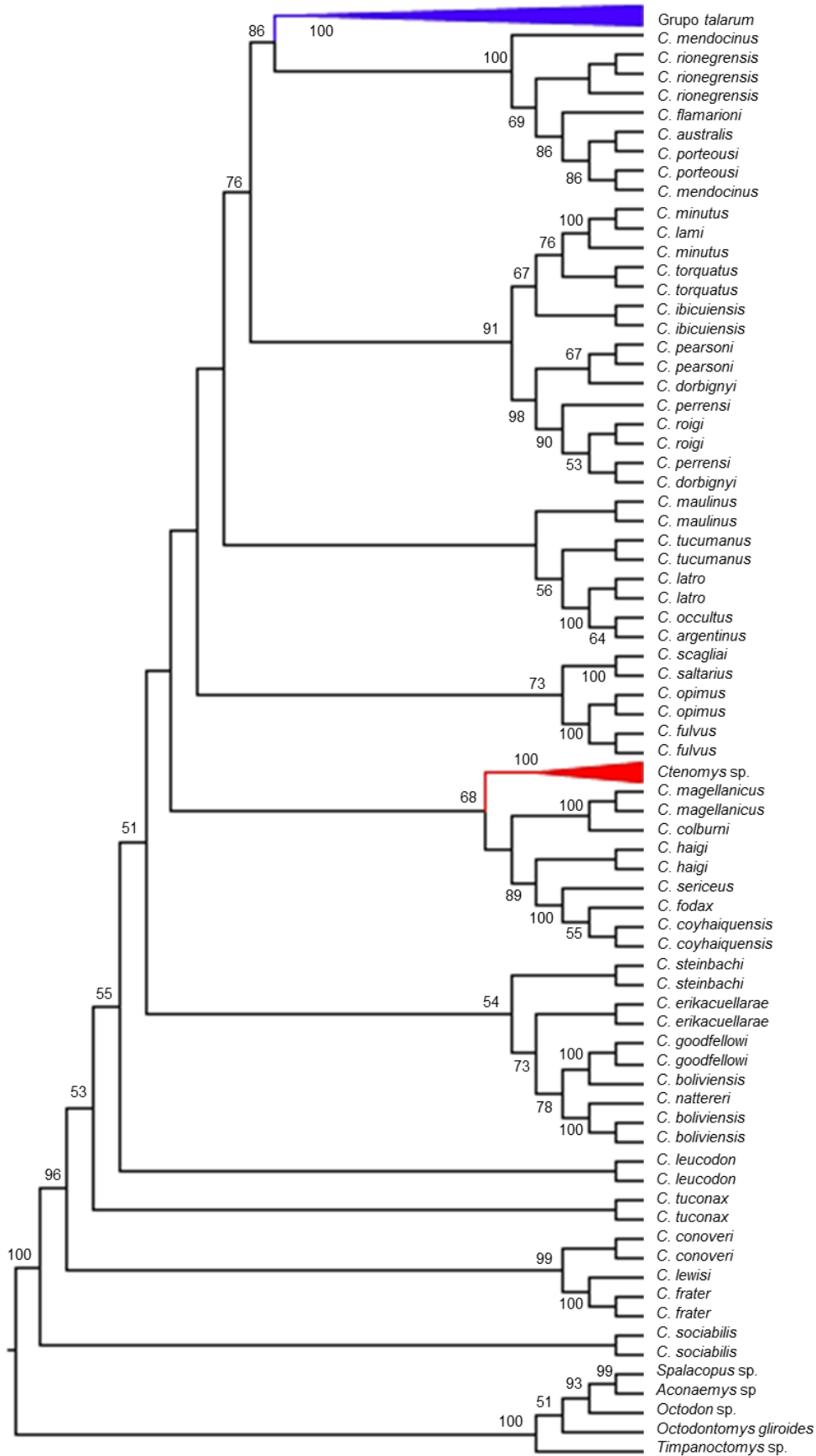
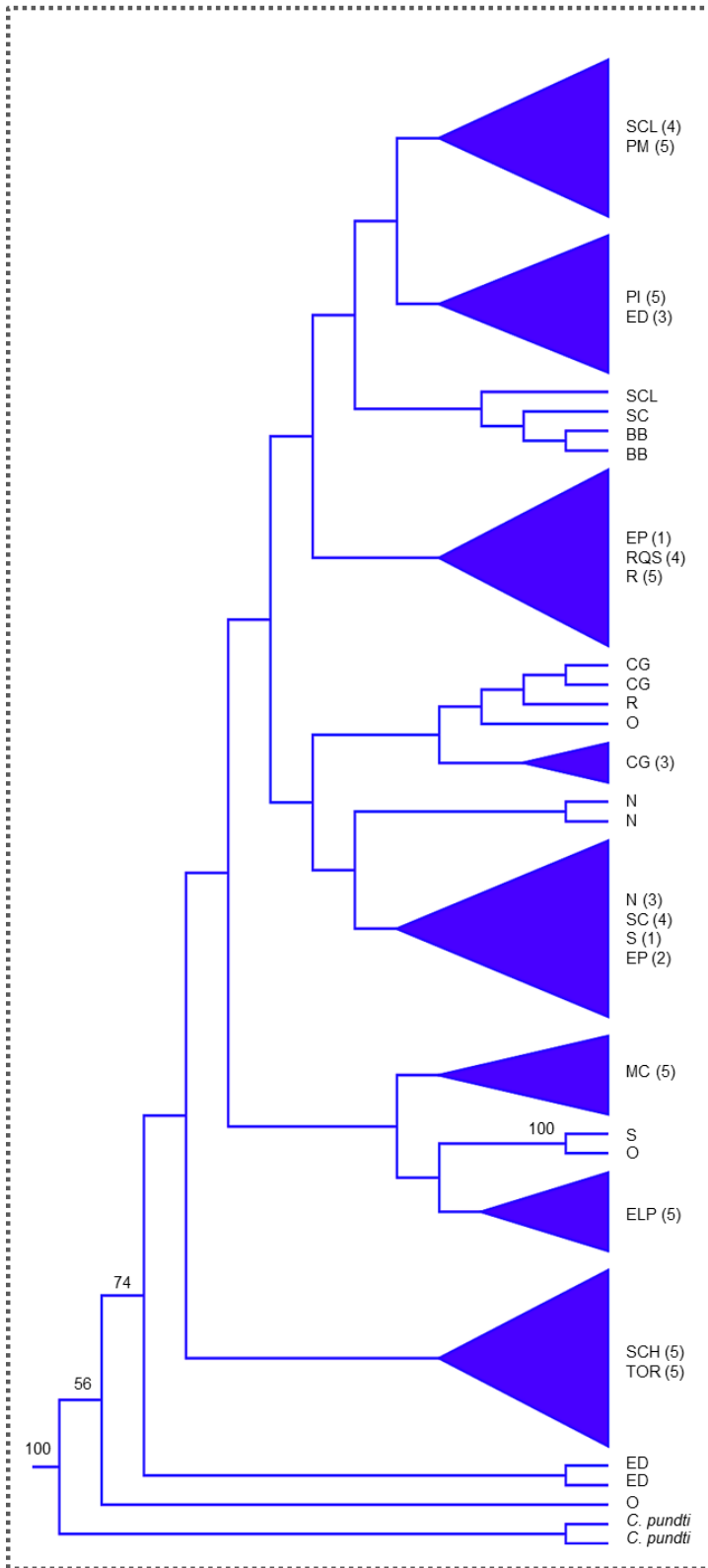


Figura 4. Árbol filogenético realizado por Inferencia Bayesiana a partir del set de datos de Cytb. Los números en los nodos representan el valor de probabilidad posterior (entre 0 y 1); sólo se muestran los valores superiores a 0,5. La barra inferior indica el tiempo desde la raíz del árbol hasta la actualidad expresado en millones de años (MA). Se muestran ampliados los clados pertenecientes al grupo *talarum* y *Ctenomys* sp. Las abreviaturas de las localidades se encuentran detalladas en la Figura 1.



Grupo *talarum*



Ctenomys sp.

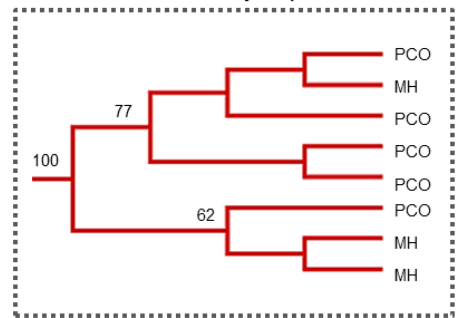


Figura 5. Árbol filogenético realizado por Máxima Verosimilitud a partir del set de datos de Cytb. Los números en los nodos representan el valor de soporte en porcentaje (%); sólo se muestran los valores superiores a 50%. Se muestran ampliados los clados pertenecientes al grupo *talarum* y *Ctenomys* sp. Las abreviaturas de las localidades se encuentran detalladas en la Figura 1.

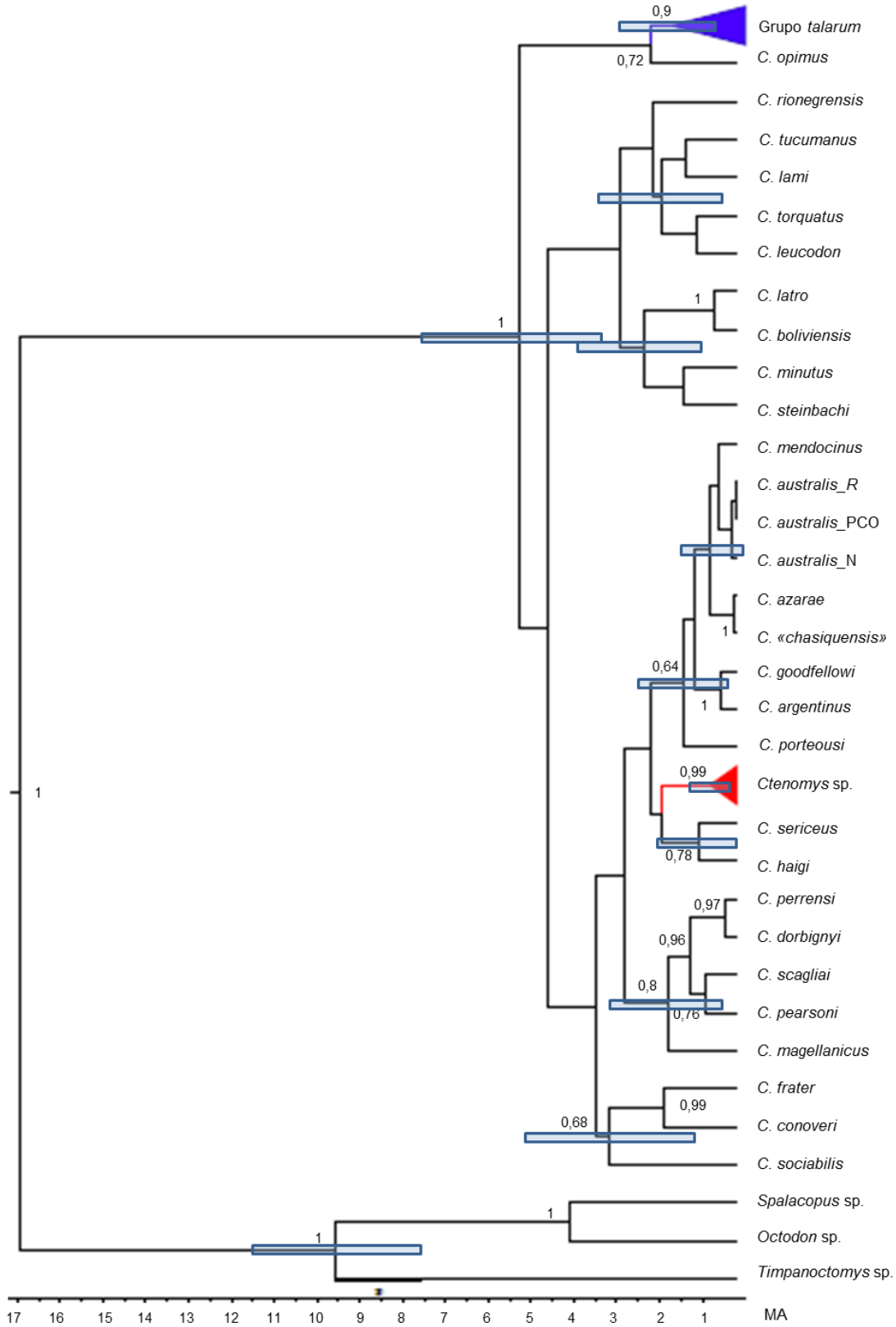
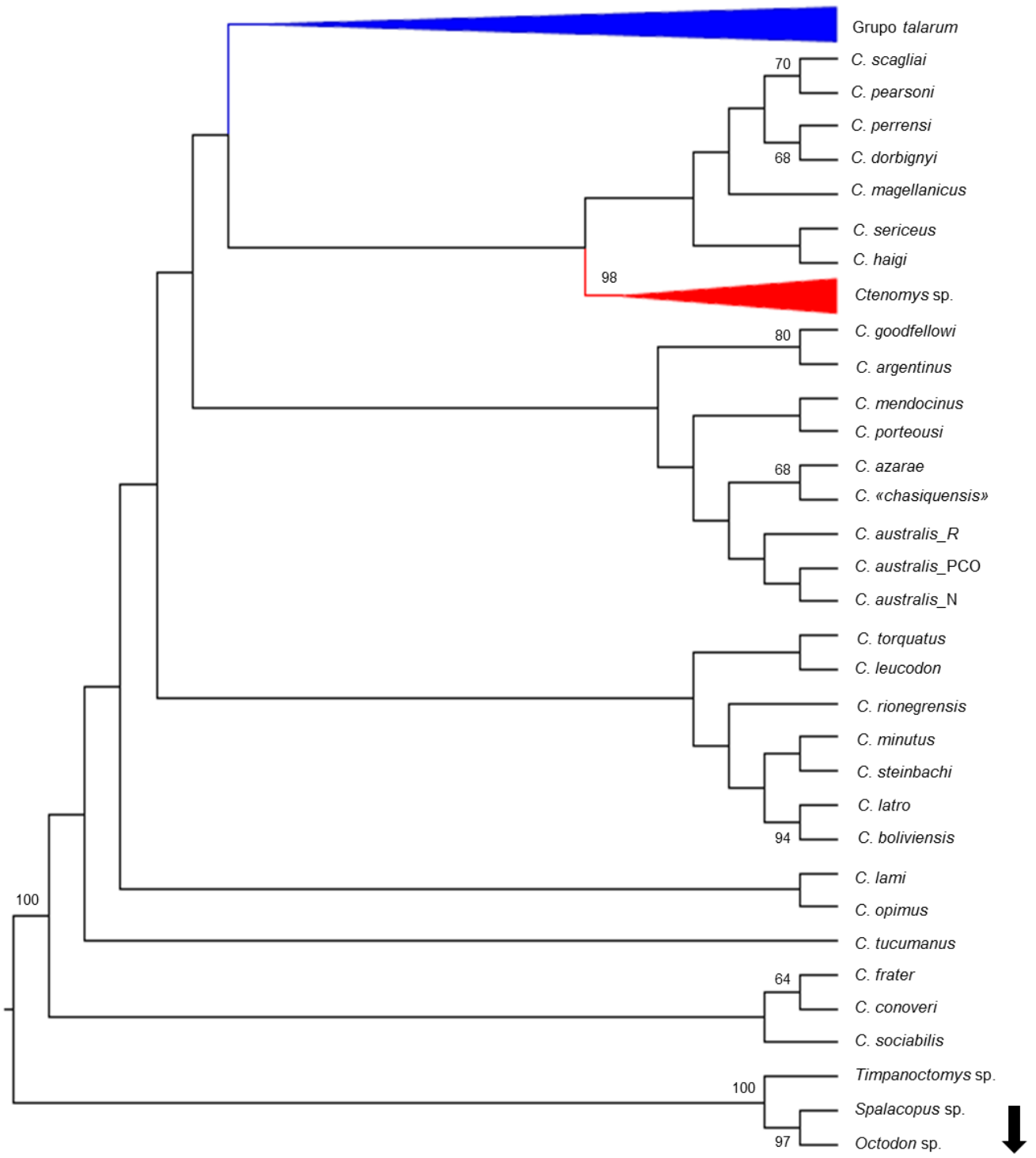
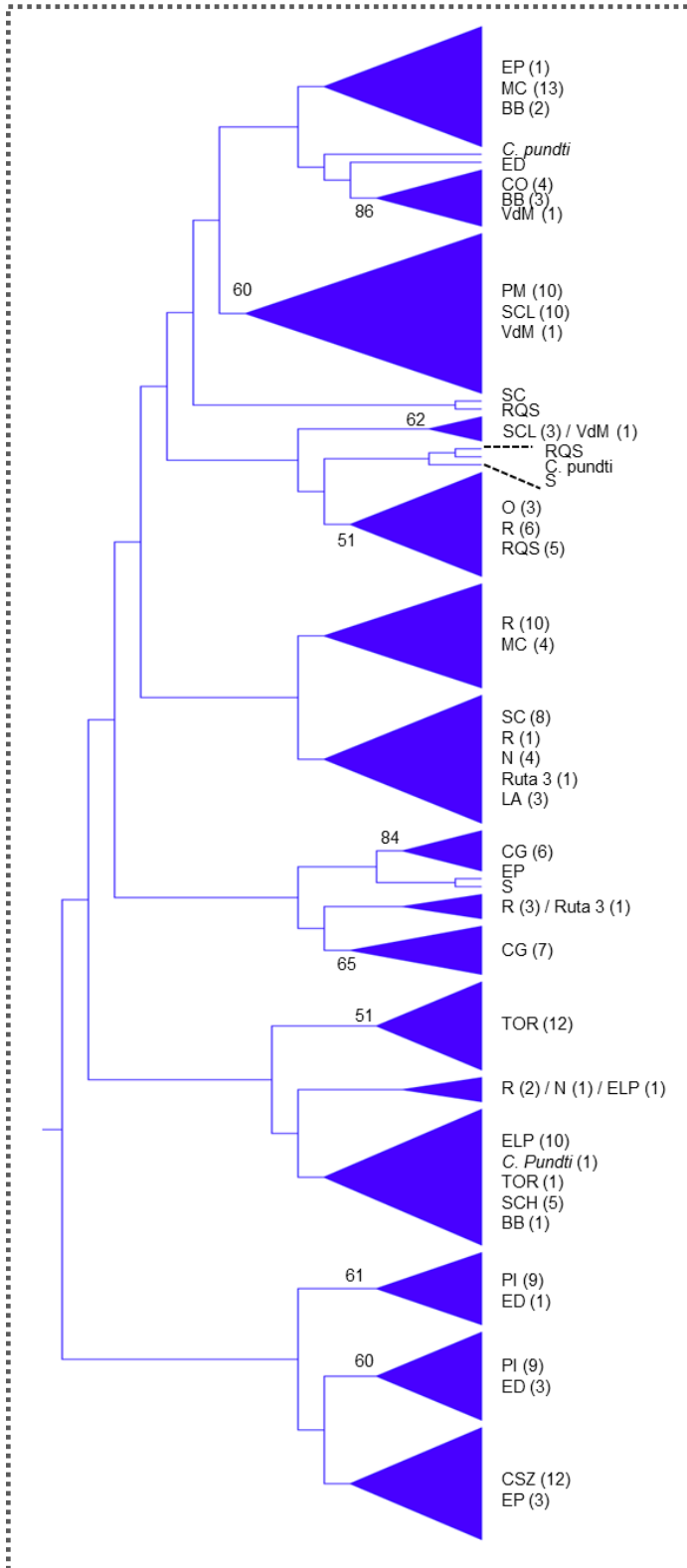


Figura 6. Árbol filogenético realizado por Inferencia Bayesiana a partir del set de datos de D-loop. Los números en los nodos representan el valor de probabilidad posterior (entre 0 y 1); sólo se muestran los valores superiores a 0,5. La barra inferior indica el tiempo desde la raíz del árbol hasta la actualidad expresado en millones de años (MA). Se muestran ampliados los clados pertenecientes al grupo *talarum* y *Ctenomys* sp. Las abreviaturas de las localidades se encuentran detalladas en la Figura 1.



Grupo *talarum*



Ctenomys sp.

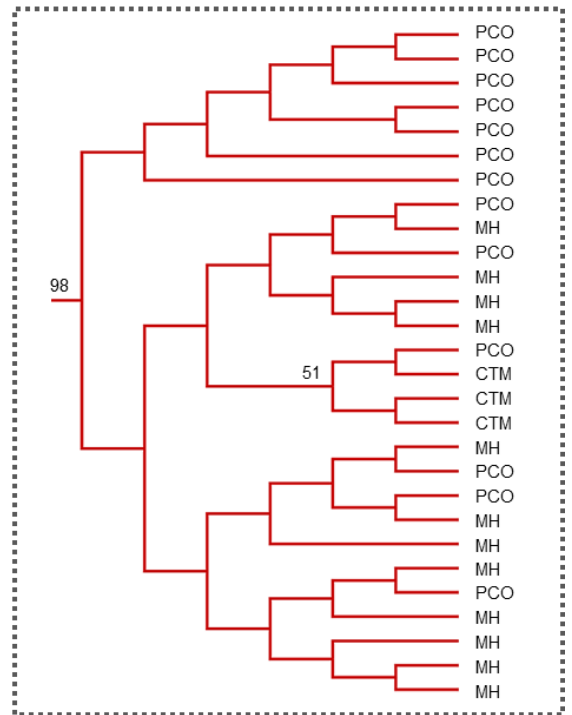


Figura 7. Árbol filogenético realizado por Máxima Verosimilitud a partir del set de datos de D-loop. Los números en los nodos representan el valor de soporte en porcentaje (%); sólo se muestran los valores superiores a 50%. Se muestran ampliados los clados pertenecientes al grupo *talarum* y *Ctenomys* sp. Las abreviaturas de las localidades se encuentran detalladas en la Figura 1.

Relaciones filogenéticas entre especímenes originalmente asignados a *C. talarum*

A pesar de las diferencias encontradas en la conformación de grupos filogenéticos entre ambos marcadores moleculares, en todos los casos se evidenció la existencia de dos linajes distintivos: el conformado por *C. talarum*, y el conformado por la nueva entidad específica *Ctenomys* sp. Estos dos clados presentaron monofilia recíproca con alto soporte de nodos y alta probabilidad posterior.

En el caso de los árboles de Cytb (tanto el de MV como el de IB), el grupo *talarum* constituido por *C. talarum* y *C. pundti*, es hermano del grupo *mendocinus*, el cual está conformado por *C. australis*, *C. mendocinus*, *C. porteousi*, *C. flamarioni* y *C. rionegrensis* (Figs. 4 y 5; ver también Parada et al. 2011); y el grupo conformado por *Ctenomys* sp. es hermano del grupo *magellanicus* conformado por *C. coyhaiquensis*, *C. colburni*, *C. fodax*, *C. haigi*, *C. magellanicus* y *C. sericeus* (Figs. 4 y 5; ver Parada et al. 2011). Estas relaciones filogenéticas están sustentadas por altos valores de probabilidad posterior y soportes de nodos. Por otro lado, para los árboles de D-loop, las relaciones filogenéticas reconstruidas a partir de IB y MV fueron discordantes entre ellas, en especial lo que constituye las relaciones más basales de los grupos. En el caso del árbol obtenido mediante el método IB, se observa al grupo *talarum*, conformado por *C. talarum* y *C. pundti*, como hermano de *C. opimus*; el grupo conformado por *Ctenomys* sp., es un clado hermano de dos especies pertenecientes al grupo *magellanicus*, *C. sericeus* y *C. haigi* (Fig. 6). A partir del árbol obtenido por MV, el grupo *talarum*, también conformado por *C. talarum* y *C. pundti*, se presenta como grupo hermano de un subclado que contiene a *Ctenomys* sp., algunas especies pertenecientes al grupo *magellanicus*, *torquatus* y *opimus* (Fig. 7).

Por último, los amplios intervalos de confianza en la estimación de tiempos de divergencia de los grupos dentro de *Ctenomys*, principalmente en el árbol de D-loop, hacen muy dificultoso sacar conclusiones robustas sobre procesos de diferenciación, y su posible relación temporal con cambios puntuales en el paisaje. Para el caso puntal de la nueva entidad caracterizada molecularmente en este capítulo, se observa un origen

relativamente reciente si se lo compara con otros grupos filogenéticos y las especies más basales del árbol.

Discusión

Los árboles filogenéticos reconstruidos a partir de dos marcadores de ADNmt, dilucidaron la presencia de una tercera especie de *Ctenomys* en la BMA. Esta nueva especie, de características fenotípicas similares a *C. talarum*, presentó monofilia recíproca respecto a esta última para todos los casos analizados. De este modo, los resultados obtenidos en este capítulo, permiten redefinir los límites de distribución para las tres especies de tuco-tucos presentes en la barrera costera.

La especie de roedor subterráneo *C. talarum* (tuco-tuco de los talaes) presenta una distribución amplia y fragmentada en áreas costeras y continentales de la provincia de Buenos Aires y La Pampa (Mora et al. 2007, 2013; Cutrera y Mora 2017; Carnovale 2020). Originalmente se han propuesto, en base a resultados sobre variación morfológica y diferencias a nivel del fenotipo, junto a la ausencia de dicha especie en la zona costera entre Necochea y Mar de Cobo, dos entidades subespecíficas: *Ctenomys talarum talarum*, con una distribución costera comprendida entre Magdalena y Santa Clara del Mar (cerca de Mar del Plata, en donde se observarían las poblaciones más australes de esta subespecie, ocupando la Barrera Medanososa Oriental), y *Ctenomys talarum recessus*, con distribución costera entre Necochea y Bahía Blanca (Barrera Medanososa Austral).

En particular, las poblaciones de *C. talarum* que ocupan áreas continentales más alejadas de la costa son disyuntas y altamente fragmentadas (ej. Coronel Suárez, Lago Epecuén, Sierra de la Ventana, El Saladillo, etc.), en general con densidades y tamaños censales mucho más bajos que las áreas costeras (obs. pers.). Si bien la distribución de esta especie en la zona costera parece ser más continua, también están presentes en un paisaje altamente fragmentado e impactado por la antropización y degradación del hábitat natural (en especial por forestaciones y urbanizaciones costeras; ver Capítulo I).

A partir del gran distanciamiento a nivel del ADNmt, Mora et al. (2007) sugirieron que el grupo de poblaciones que ocupan el sector costero comprendido entre Pehuen-Có y Monte Hermoso no pertenecerían a lo que originalmente fue designado como *C. talarum recessus*, sino a una forma taxonómica no descrita formalmente hasta el momento. En este último trabajo se hace mención de la gran divergencia genética que hay entre el haplogrupo representado por individuos de *Ctenomys* provenientes del sector Monte Hermoso/Pehuen Có, y el resto de los haplotipos que claramente son asociados a *C.*

talarum, sugiriendo la posibilidad de que se trate de una nueva entidad taxonómica en dicha área. En el trabajo de Cutrera y Mora (2017) se sugiere, a partir de datos de intrones y exones del Complejo Mayor de Histocompatibilidad del ADNn (MHC) y de secuencias de la región control del ADNmt, un gran distanciamiento a nivel genético entre esta nueva entidad taxonómica y las poblaciones descritas formalmente como *C. talarum* presentes en otros sectores de la región pampeana. Esta nueva entidad definida con el nombre de *Ctenomys* sp., además, se encuentra en simpatria con parte del rango de distribución de *C. australis*. Pese a dicha simpatria geográfica, a nivel microespacial los ambientes ecológicos de estas dos últimas especies se encuentran claramente diferenciadas (ver Capítulo III). Además de ello, en el Capítulo III también se pudo evidenciar las diferencias importantes entre los ambientes ecológicos y la estructura edáfica del sustrato que ocupan *C. talarum* y *Ctenomys* sp.

En base a lo mencionado, en este capítulo se evalúan las relaciones filogenéticas entre la nueva entidad biológica de *Ctenomys* descrita en este capítulo para el sector costero comprendido entre la desembocadura del Arroyo Sauce Grande y Pehuen C6, en relación al resto de las especies del género *Ctenomys*. Se focaliza sobre aquellas especies que conforman el área de estudio en el sureste de la Provincia de Buenos Aires, y en especial se brinda claridad sobre la posición filogenética de esta nueva entidad en relación a poblaciones de *C. talarum* distribuidas en su rango completo de distribución actual (se incluyen también nuevos registros poblacionales para el Lago Epecuén y Coronel Suarez, ver Fig. 1). Este abordaje es llevado a cabo a partir del análisis de secuencias completas del gen del citocromo b (1140 pb), y secuencias parciales de la región control (426 pb) del ADNmt.

Breve descripción de las relaciones filogenéticas de *C. talarum*

Ctenomys talarum es una especie que ha sido ampliamente estudiada en los últimos 25 años en lo que respecta a su ecología y biología poblacional (Busch et al. 2000), comportamiento (Zenuto et al. 1999), estrategias reproductivas (Fanjul y Zenuto 2017; Fanjul et al. 2018), y genética poblacional (Cutrera et al. 2005; Mora et al. 2007, 2013; Cutrera y Mora 2017). En especial, *C. talarum* ha sido foco de numerosos estudios a nivel genético con distintos tipos de marcadores, integrando diferentes escalas geográficas, desde estudios filogeográficos (Mora et al. 2007, 2013), estudios a pequeña escala espacial (Cutrera et al. 2005), hasta abordajes filogenéticos (Parada et al. 2011). Algunos de estos estudios han brindado pistas en relación a las grandes diferencias que

existen a nivel genético entre las poblaciones ubicadas entre la desembocadura del Arroyo Sauce Grande y Pehuen C6, y las poblaciones del resto de la distribución formalmente aceptada de *C. talarum* para la regi6n pampeana.

Este es el primer estudio que evalúa las relaciones filogenéticas del tuco-tuco de los talaes en todo su rango de distribución, arrojando nueva informaci6n sobre las relaciones filogenéticas de sus poblaciones en relaci6n con otras especies de *Ctenomys*.

La distribución costera de *C. talarum* se subdividi6, originalmente, en dos subespecies diferentes dentro de la provincia de Buenos Aires, una de las cuales se ubic6 en la distribución costera que actualmente corresponde a la Barrera Medanosa Oriental (*C. talarum talarum*, Thomas 1898; Kiblisky y Reig 1966; Pearson et al. 1968), y la otra fue circunscripta al área comprendida entre Necochea y Bahía Blanca (*C. talarum recessus*, Thomas 1912; ver Fig.1). Aunque la localidad tipo de *C. talarum recessus* originalmente fue descripta para la ciudad de Bahía Blanca, algunos autores han extendido la incidencia de esta subespecie a lo largo de la porci6n sureste de la costa, desde Bahía Blanca hasta Necochea (Justo et al. 2003; Fig. 1). Sin embargo, cabe señalar que esta distinción en dos subespecies se bas6 principalmente en diferencias en el tamaño corporal, caracteres externos cualitativos y algunos aspectos de la variaci6n morfol6gica entre diferentes poblaciones (Reig et al. 1965). Toloza et al. (2002), trabajando con polimorfismos cromos6micos y comparando algunas poblaciones de esta especie a nivel geográfico, sugieren que la variabilidad cariotípica poblacional de *C. talarum* no respalda la distinción entre *C. talarum talarum* y *C. talarum recessus*. En el trabajo citogenético de Massarini et al. (2002), los cuales trabajaron sobre una muestra de 72 especímenes en una transecta de 103 km lineales de costa en la Barrera Medanosa Oriental, apoya una amplia variabilidad cromos6mica que comprende nueve cariotipos diferentes con números diploides que van desde $2n = 44$ a $2n = 48$ y $NF = 78$ y 80 . Según estos autores, los patrones de bandas C y G revelaron que el polimorfismo cromos6mico se encuentra asociado a dos reordenamientos: una fusi6n/fisi6n Robertsoniana y una fusi6n en tandem, que afectan a dos pares cromos6micos diferentes. Estos datos indican que *C. talarum* presenta una amplia variaci6n a nivel de cariotipos, inclusive a una escala espacial muy pequeña. Esto tambi6n sugiere que la distinción subespecífica en esta especie no debiera ser respaldada, al menos, a partir de la variaci6n cariotípica a nivel espacial. Adem6s, García Esponda et al. (2009) explican que las poblaciones de esta especie no pueden discriminarse claramente por la forma del cráneo, sugiriendo la necesidad de hacer análisis complementarios que abarquen técnicas moleculares más profundas.

Si bien Justo (1992) describe una tercera subespecie endémica de la región central de la provincia de La Pampa (localidad tipo en Luan Toro), dicho trabajo se basó únicamente en la diferenciación morfológica del cráneo, careciendo de datos cariotípicos y/o moleculares que ayuden a una mejor interpretación en relación al estado taxonómico de esta población continental con alto grado de aislamiento. Además, Tiranti y Massarini (1999) argumentan que las poblaciones de tuco-tucos de esta porción geográfica de la provincia de La Pampa, debieran referirse a la especie *Ctenomys pundti* y no a la subespecie *Ctenomys talarum occidentalis*, propuesto por Justo (1992).

Relaciones filogenéticas entre la nueva especie *Ctenomys* sp. y el resto de los ctenómidos

En este capítulo se utilizaron dos regiones del ADNmt (la secuencia completa del citocromo b y una secuencia parcial de la región control) y se compararon a nivel filogenético los haplotipos de todas las poblaciones de *C. talarum* secuenciados hasta la fecha. A su vez, el objetivo central fue brindar mayor claridad al estatus taxonómico de las secuencias provenientes del área Sauce Grande/Pehuen C6. En funci6n de definir las relaciones filogenéticas entre esta nueva entidad biol6gica y el resto de las especies de *Ctenomys*, en los an6lisis filogenéticos se incluyeron, adem6s, secuencias de ambos marcadores moleculares para la mayoría de las especies de ctenómidos conocidos, tomando en cuenta algunas especies de octod6ntidos como grupo externo. Con excepci6n del grupo de poblaciones distribuidas entre la desembocadura del Arroyo Sauce Grande y Campo Olivos (situado a aproximadamente 20 km al oeste de la localidad de Pehuen C6), todas las poblaciones muestreadas que originalmente fueron descritas como *C. talarum*, se encuentran efectivamente asociadas, del punto de vista filogenético, a esta 6ltima especie. De acuerdo a los resultados de este capítulo, se observa una alta divergencia genética al comparar los individuos de las localidades distribuidas entre el Balneario Sauce Grande y el sitio de muestreo Campo Olivos, en relaci6n al resto de las poblaciones de *C. talarum* (esto sin tener en cuenta individuos de *C. australis* que se distribuyen en simpatría con esta nueva entidad biol6gica, los cuales pertenecen al grupo filogenético “*mendocinus*” y son claramente distinguibles en su morfología externa y características fenotípicas a ejemplares de *C. talarum*). Así, esta nueva informaci6n revela sin lugar a dudas, que la entidad presente en este sector de la barrera de dunas es una nueva especie de tuco-tuco. Estos resultados son apoyados por Mora et al. (2007), los cuales observaron, a partir de datos del ADNmt (Regi6n Control)

trece diferencias a nivel de nucleótidos entre estos dos grupos de ctenómidos. Este porcentaje de divergencia entre estos dos grupos principales de haplotipos es comparable con la divergencia entre otras especies de *Ctenomys* (ver Parada et al. 2011). De forma concomitante, Mora et al. (2007) observó que el quiebre filogeográfico entre la región conformada por poblaciones de Sauce Grande/Pehuen C6 y el resto de los grupos geográficos de *C. talarum* se asoció al 63% de la variación total. Estos autores concluyen que las poblaciones de Monte Hermoso y Pehuen C6 no deberían considerarse como una subespecie de *C. talarum*. Por otro lado, un análisis hecho a partir de un fragmento parcial de la región D-loop (ADNmt, 420 pb.; Comm. Pers.), mostró una alta divergencia entre individuos de *C. talarum* muestreados en el Balneario Los 6ngeles, Bahía Blanca, Oriente y Punta Alta, e individuos muestreados en Pehuen C6 y Monte Hermoso. En este análisis también se incorporaron secuencias de individuos muestreados al sur de Buenos Aires, entre el R6o Colorado y el R6o Negro, encontr6ndose muy pocas diferencias nucleot6dicas entre este grupo de cten6midos y los ubicados entre Pehuen C6 y Monte Hermoso. Estos resultados indicar6an una gran similitud filogen6tica entre ambos grupos, sugiriendo una separaci6n reciente entre ambos. Esta informaci6n, junto con la reportada en este cap6tulo respecto las relaciones filogen6ticas de *Ctenomys* sp., permite aclarar el panorama en relaci6n a la historia de esta nueva especie. Durante el 6ltimo M6ximo Glacial (LGM; aproximadamente 24.000 a6os AP; ver Rabassa 2008), el nivel del mar se encontraba entre -120 y -140 m por debajo del nivel actual (Fleming et al. 1998; Uriarte Cantolla 2003). La fisonom6a y posici6n de la costa atl6ntica en la regi6n pampeana y patag6nica durante el LGM, periodo caracterizado en mayor medida por un clima fr6o y seco, habr6a sido muy diferente al que percibimos en la actualidad (Ponce et al. 2011). Luego del LGM a finales del Pleistoceno, se observa un incremento continuo en el nivel del mar durante el Holoceno, hasta alcanzar la posici6n actual (Isla et al 2001; Ponce et al. 2011). Probablemente, la mayor extensi6n de territorio hacia finales del Pleistoceno haya propiciado una migraci6n exitosa de un grupo de cten6midos pertenecientes al grupo *magellanicus*, que avanzaron hacia el noreste, hasta llegar al sitio donde se encuentran en la actualidad. Posteriormente, cuando el nivel del mar ascendió, estas poblaciones habr6an quedado aisladas y disyuntas unas de otras, ubic6ndose en distintos sectores de la costa de la provincia de Buenos Aires.

Si bien en este cap6tulo se presenta nueva informaci6n respecto la presencia de una nueva especie en la barrera de dunas bonaerense, no se aborda una descripci6n detallada que describa adecuadamente esta nueva entidad biol6gica de cten6mido para el

sureste de la provincia de Buenos Aires. Pese a ello, observaciones a campo sugieren algunas diferencias en cuanto al tipo de fonación en las tuqueras y características de la morfología externa (ej. tamaño corporal, grosor y largo de cola) en relación a *C. talarum*. Así, para una descripción formal de esta nueva especie es necesaria la inclusión de análisis morfológicos, los cuales podrían ser tanto cualitativos como cuantitativos, que apoyen la información filogenética reportada en este capítulo.

Relaciones filogenéticas entre grupos de ctenómidos presentes en la Costa Atlántica Bonaerense

A partir principalmente del marcador Cytb, en este capítulo se pudo reconstruir los grupos filogenéticos publicados por Parada et al. (2011), quienes reportaron la primera filogenia molecular incluyendo la gran mayoría de especies de *Ctenomys* con este mismo marcador. A partir del Cytb (y para ambos métodos empleados), se observan los grupos *mendocinus* y *talarum* como grupos filogenéticos hermanos, presentando ambos monofilia recíproca. Estos resultados son apoyados por los de Parada et al. (2011) y Carnovale (2020), quienes al igual que en este trabajo, arrojaron topologías con nodos robustos de alta probabilidad posterior para los mismos grupos.

Los análisis filogenéticos también mostraron una gran afinidad entre las secuencias de *C. pundti* y *C. talarum*, las cuales no forman grupos recíprocamente monofiléticos a partir del ADNmt. Esto pudo observarse para los diferentes árboles conformados tanto por Cytb como D-loop. Carnovale (2020) reportó resultados similares con secuencias de Cytb y secuencias concatenadas de Cytb y D-loop; en dicho trabajo no se observó monofilia recíproca para aquellas especies pertenecientes al grupo *talarum* (*C. talarum* y *C. pundti*) en ninguna de las filogenias mitocondriales.

En relación a *Ctenomys* sp., se encontró congruencia para ambos árboles filogenéticos reconstruidos a partir de Cytb. Ambos muestran a esta especie como grupo hermano del grupo patagónico *magellanicus*. El árbol obtenido con D-loop, mediante el método de IB, si bien no evidenció una configuración robusta respecto al grupo *magellanicus*, mostró a *Ctenomys* sp. como grupo hermano de *C. sericeus* y *C. haigi*, dos especies pertenecientes a dicho grupo patagónico (Parada et al. 2011; Carnovale 2020). Así, si se tiene en cuenta la información filogenética molecular reportada hasta el momento en otros trabajos de ctenómidos, el árbol filogenético construido con D-loop mediante el método de MV fue el que presentó mayores inconsistencias. En el mismo se observó algunas particularidades, como el grupo *talarum* hermano de un subclado

conteniendo especies de los grupos *opimus*, *magellanicus*, *torquatus*, y *Ctenomys* sp.; también, este árbol es el único en el que se observa a *Ctenomys* sp. como grupo hermano de un subclado conteniendo a especies de los grupos *opimus*, *magellanicus* y *torquatus*. Una de las razones que explicaría esta notoria diferencia con los árboles de Cytb, y que va más allá de la cantidad de especies involucradas en cada caso, es la naturaleza del marcador D-loop. Si bien en este trabajo no se observaron problemas de saturación del D-loop para el grupo Ctenomyidae/Octodontidae, el Cytb es un marcador más conservado en comparación al anterior, reteniendo una mejor señal filogenética. Por lo tanto, se concluye que el Cytb es más robusto para este tipo de reconstrucciones filogenéticas.

Anexos

Anexo 1. Se muestran las especies y sus correspondientes códigos de Genbank (en el caso que corresponda) utilizados para calibrar las tasas de sustitución y los tiempos de divergencia de los grupos/nodos más representativos dentro de Caviomorpha, tanto para el Cytb como D-loop.

Especie	Cytb	D-loop
<i>Dactylomys boliviensis</i>	L23339.1	
<i>Dactylomys dactylinus</i>		KU762015.1
<i>Echimys chrysurus</i>	L23341.1	KU892781.1
<i>Capromys pilorides</i>	AF422915.1	FR686471.1
<i>Lonchothrix emiliae</i>	KU892786.1	KU892786.1
<i>Mesocapromys auritus</i>	KJ742655.1	
<i>Mesocapromys melanurus</i>		KU892769.1
<i>Octodontomys gliroides</i>	AF370706.1	KF917612.1
<i>Spalacopus cyanus</i>	HM544133	HM544133.1
<i>Tympanoctomys barrerae</i>	AF007060	HM544132.1
<i>Octodon degus</i>	AM407929	HM544134.1
<i>Aconaemys fuscus</i>	KC731571.1	
<i>Myoprocta acouchy</i>	AF437781.1	AF437816.1
<i>Dasyprocta leporina</i>	AF437791.1	AF437845.1
<i>Dasyprocta fuliginosa</i>	AF437784.1	AF437818.1
<i>Cavia tschudii</i>	AY382792.1	
<i>Cavia aperea</i>		KT439327.1
<i>Galea musteloides</i>	GU082485.1	
<i>Microcavia niata</i>	GU067490.1	
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	GU136721.1	
<i>Dolichotis patagonum</i>	AY382787.1	
<i>Ctenomys sociabilis</i>	HM777495.1, KU659601.1	HM544129.1
<i>Ctenomys conoveri</i>	AF007055.1, AF007054.1	JX275654.1
<i>Ctenomys pundti</i>	HM777491.1, HM777490.1	Secuencia aún no subido al Genbank (3)
<i>Ctenomys lewisi</i>	AF007049.1	
<i>Ctenomys porteousi</i>	AF370682.1, AF370681.1	JQ341034.1
<i>Ctenomys boliviensis</i>	AF007037.1, AF007039.1, AF007040.1	JQ341037.1
<i>Ctenomys nattereri</i>	HM777484.1	
<i>Ctenomys goodfellowi</i>	AF007051.1, AF007050.1	Secuencia aún no subido

		al Genbank
<i>Ctenomys erikacuellarae</i>	KJ778557.1, KJ778556.1	
<i>Ctenomys steinbachi</i>	AF007044.1, AF007043.1	JQ341036.1
<i>Ctenomys opimus</i>	AF007042.1, AF370701.1	Secuencia aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys fulvus</i>	AF370685.1, AF370686.1	
<i>Ctenomys scagliai</i>	HM777494.1	Secuencia aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys saltarius</i>	HM777493.1	
<i>Ctenomys minutus</i>	HM777481.1, HM777482.1	JX275648.1
<i>Ctenomys ibicuiensis</i>	JQ389020.1, JQ389023.1	
<i>Ctenomys lami</i>	HM777477.1	JQ322888.1
<i>Ctenomys torquatus</i>	AF119111.1, AF119109.1	JX275651.1
<i>Ctenomys roigi</i>	HM777492.1, KT818670.1	
<i>Ctenomys perrensi</i>	HM777488.1, HM777487.1	JX275626.1
<i>Ctenomys dorbignyi</i>	JQ389030.1, JQ389031.1	JX275619.1
<i>Ctenomys pearsoni</i>	HM777486.1, AF119108.1	JX275653.1
<i>Ctenomys maulinus</i>	AF370703.1, AF370702.1	
<i>Ctenomys tucumanus</i>	AF370692.1, AF370694.1	Secuencia aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys latro</i>	HM777478.1, AF370704.1	Secuencia aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys occultus</i>	HM777485.1	
<i>Ctenomys argentinus</i>	AF370680.1	JX275655.1
<i>Ctenomys colburni</i>	HM777474.1	
<i>Ctenomys fodax</i>	HM777475.1	
<i>Ctenomys sericeus</i>	HM777496.1	
<i>Ctenomys haigi</i>	HM777476.1, KU659602.1	Secuencia aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys magellanicus</i>	HM777479.1, DQ333326.1	HQ262415.1
<i>Ctenomys coyhaiquensis</i>	AF119112.1, AF119113.1	
<i>Ctenomys leucodon</i>	AF007056.1, HM544131.1	HM544131.1
<i>Ctenomys tuconax</i>	AF370693.1, AF370684.1	
<i>Ctenomys frater</i>	KJ778558.1, AF007045.1	Secuencia aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys talarum</i> (BB)	Secuencia aún no subido al Genbank	
<i>Ctenomys talarum</i> (MC)	Secuencia aún no subido al Genbank	
<i>Ctenomys</i> sp. (PC)	Secuencia aún no subido al Genbank	

<i>Ctenomys</i> sp. (MH)	Secuencia aún no subido al Genbank	
<i>Ctenomys australis</i>	AF370697.1	DQ416719.1, MF770041.1, DQ416718.1
<i>Ctenomys rionegrensis</i>	AF119103.1, AF538377.1, AF538374.1	JQ341033.1
<i>Ctenomys mendocinus</i>	AF538374.1, AF370695.1	MF770074.1
<i>Ctenomys flamarioni</i>	AF119107.1	
<i>Ctenomys azarae</i>		JQ341035.1
<i>Ctenomys "chasiquensis"</i>		KU577537.1

Anexo 2. Se reporta la lista de especies utilizadas para cada marcador molecular, con su correspondiente número de acceso de Genbank.

Espece	Cytb	D-loop
<i>Ctenomys goodfellowi</i>	AF007051, AF007050	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys boliviensis</i>	AF007037, AF007039, AF007040	JQ341037
<i>Ctenomys steinbachi</i>	AF007044, AF007043	JQ341036
<i>Ctenomys opimus</i>	AF007042, AF370701	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys mendocinus</i>	AF007062, AF370695	MF770074
<i>Ctenomys azarae</i>	-	JQ341035
<i>Ctenomys sociabilis</i>	HM777495, KU659601	HM544129
<i>Ctenomys conoveri</i>	AF007055, AF007054	JX275654
<i>Ctenomys leucodon</i>	AF007056, HM544131	HM544131
<i>Ctenomys dorbignyi</i>	JQ389030, JQ389031	JQ686026
<i>Ctenomys perrensi</i>	HM777488, HM777487	JX275626
<i>Ctenomys pearsoni</i>	HM777486, AF119108	JX275653
<i>Ctenomys scagliai</i>	HM777494	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys torquatus</i>	AF119111, AF119109	JX275651
<i>Ctenomys lami</i>	HM777477	JQ322888
<i>Ctenomys latro</i>	HM777478, AF370704	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys minutus</i>	HM777481, HM777482	JX275648
<i>Ctenomys frater</i>	KJ778558, AF007045	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys tucumanus</i>	AF370692, AF370694	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys argentinus</i>	AF370680	JX275655
<i>Ctenomys pundti</i>	HM777491, HM777490,	Secuencias aún no subidas a GenBank
<i>Ctenomys chasiquensis</i>	-	KU577537

<i>Ctenomys australis</i>	AF370697	MF770041, JQ341032, DQ416732
<i>Ctenomys flamarioni</i>	AF119107	-
<i>Ctenomys haigi</i>	HM777476, KU659602	JQ341039
<i>Ctenomys porteousi</i>	AF370682, AF370681	JQ341034
<i>Ctenomys rionegrensis</i>	AF119103, AF538377, AF538374	JQ341033
<i>Ctenomys magellanicus</i>	HM777479, DQ333326	HQ262415
<i>Ctenomys sericeus</i>	HM777496	Secuencias aún no subido al Genbank
<i>Ctenomys lewisi</i>	AF007049	-
<i>Ctenomys nattereri</i>	HM777484	-
<i>Ctenomys erikacuellarae</i>	KJ778557, KJ778556	-
<i>Ctenomys fulvus</i>	AF370685, AF370686	-
<i>Ctenomys saltarius</i>	HM777493	-
<i>Ctenomys ibicuiensis</i>	JQ389020, JQ389023	-
<i>Ctenomys roigi</i>	HM777492, KT818670	-
<i>Ctenomys maulinus</i>	AF370703, AF370702	-
<i>Ctenomys occultus</i>	HM777485	-
<i>Ctenomys colburni</i>	HM777474	-
<i>Ctenomys fodax</i>	HM777475	-
<i>Ctenomys coyahiquensis</i>	AF119112, AF119113	-
<i>Ctenomys tuconax</i>	AF370693, AF370684	-
<i>Aconaemys sp.</i>	KC731571	-
<i>Spalacopus sp.</i>	AF007061	HM544133
<i>Octodon sp.</i>	AF007058	HM544134
<i>Tympanoctomys sp.</i>	AF007060	HM544132
<i>Octodontomys gliroides</i>	AF370706	-

Anexo 3. Tests de saturación para las secuencias de ADNmt (Cytb y D-loop) usadas para calibrar los árboles de Caviomorpha y Ctenomyidae-Octodontidae.

Test de saturación para el set de datos de Cytb usado para calibrar el árbol de Caviomorpha.

Num OTU	Iss	IssSym	T	DF	P	IssAsym	T	DF	P
4	0.157	0.825	59.661	1139	0	0.793	56.806	1139	0
8	0.156	0.795	54.577	1139	0	0.691	45.69	1139	0
16	0.158	0.779	52.702	1139	0	0.585	36.277	1139	0
32	0.164	0.757	49.956	1139	0	0.459	24.845	1139	0

Test de saturación para el set de datos de D-loop usado para calibrar el árbol de Caviomorpha.

Num OTU	Iss	IssSym	T	DF	P	IssAsym	T	DF	P
4	0.351	0.791	13.796	432	0	0.758	12.77	432	0
8	0.377	0.745	8.252	432	0	0.634	5.751	432	0
16	0.427	0.709	4.864	432	0	0.499	1.243	432	0.2145
32	0.484	0.695	2.95	432	0.0034	0.367	1.649	432	0.1

Test de saturación para la primera y segunda posición del codón del Cytb usado para calibrar el árbol de Ctenomyidae.

Num OTU	Iss	IssSym	T	DF	P	IssAsym	T	DF	P
4	0.034	0.81	113.606	759	0	0.779	109.04	759	0
8	0.036	0.773	102.341	759	0	0.665	87.289	759	0
16	0.039	0.755	95.477	759	0	0.548	67.91	759	0
32	0.041	0.728	94.227	759	0	0.408	50.221	759	0

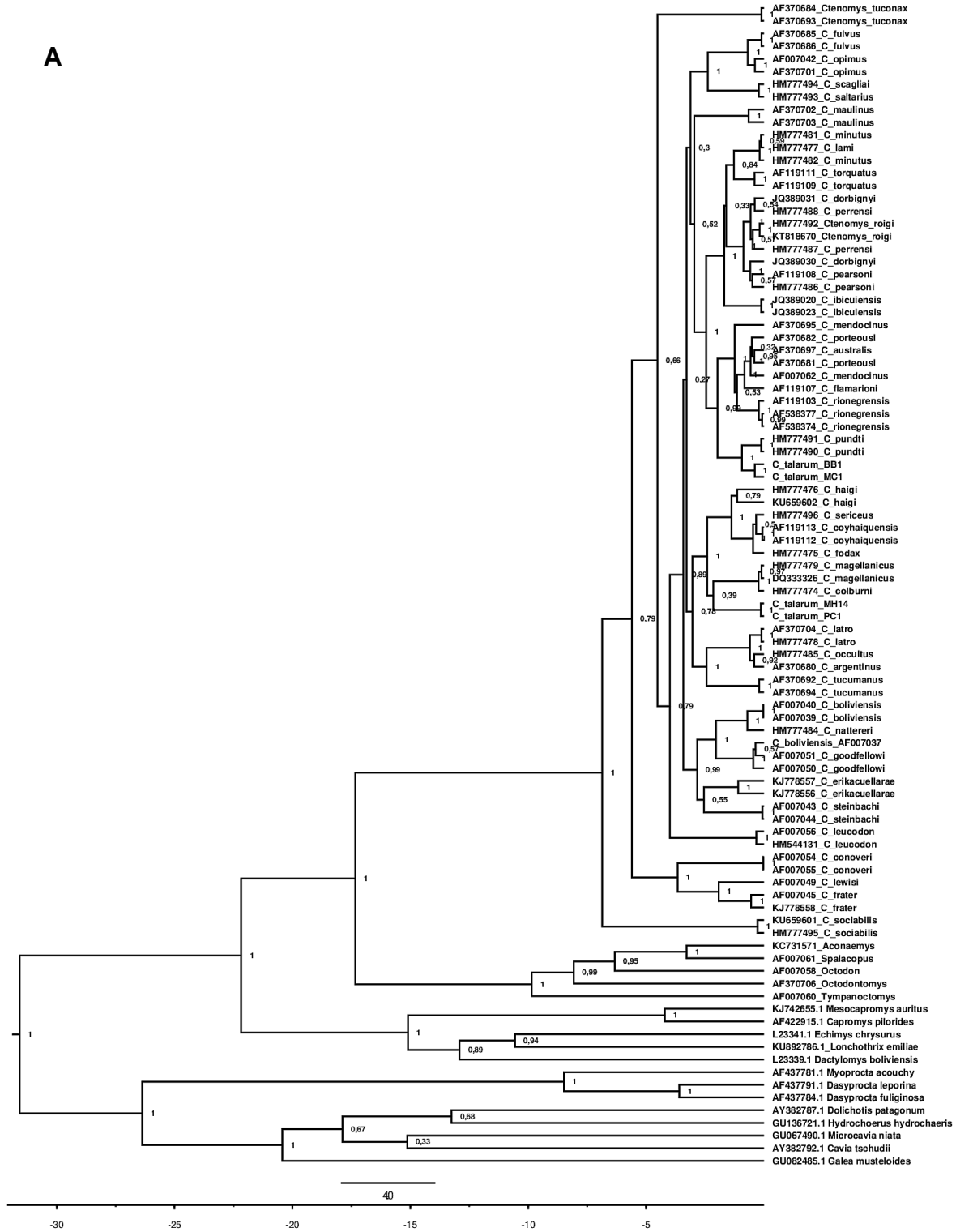
Test de saturación para la tercera posición del codón del Cytb usado para calibrar el árbol de Ctenomyidae.

Num OTU	Iss	IssSym	T	DF	P	IssAsym	T	DF	P
4	0.215	0.787	28.735	379	0	0.756	27.201	379	0
8	0.212	0.74	27.508	379	0	0.629	21.733	379	0
16	0.232	0.698	24.629	379	0	0.489	13.578	379	0
32	0.237	0.689	24.853	379	0	0.36	6.739	379	0

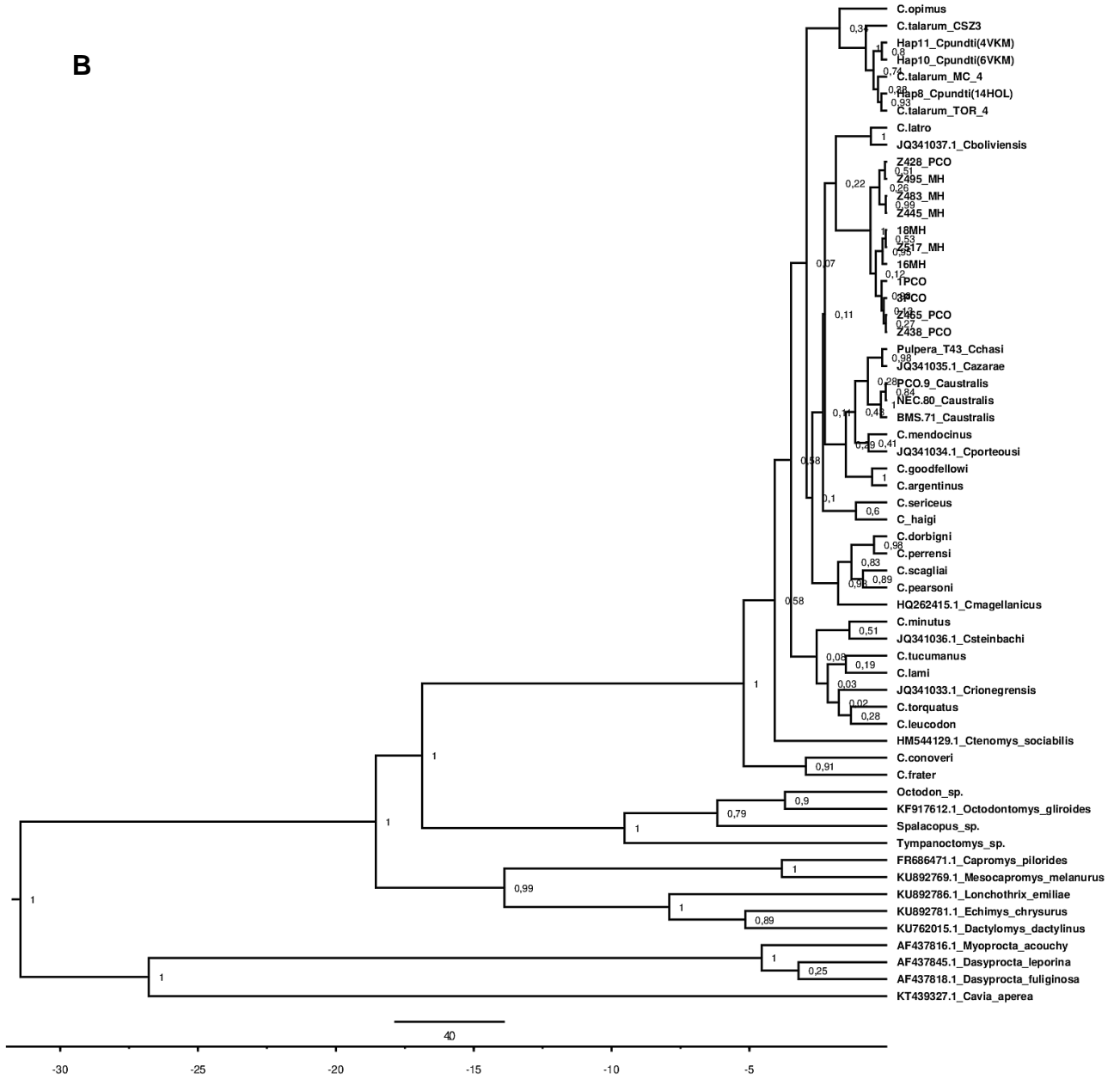
Test de saturación para el set de datos de D-loop usado para calibrar el árbol de Ctenomyidae.

Num OTU	Iss	IssSym	T	DF	P	IssAsym	T	DF	P
4	0.15	0.79	24.418	425	0	0.758	23.179	425	0
8	0.174	0.745	14.973	425	0	0.633	12.05	425	0
16	0.203	0.707	10.012	425	0	0.498	5.853	425	0
32	0.234	0.694	7.344	425	0	0.366	2.11	425	0.0354

Anexo 4. Relaciones filogenéticas entre diferentes grupos dentro de Caviomorpha para Cytb (A) y D-loop (B).



B



Capítulo III

Modelos de distribución potencial de tres especies endémicas de tuco-tucos de Argentina: ¿Qué variables ambientales presentan un mejor rendimiento en especies altamente especializadas?

Resumen

Los roedores del género *Ctenomys* habitan el medio subterráneo, por lo que presentan una alta especificidad por aquellos suelos friables aptos para excavar, así como también cuentan con una movilidad restringida, debido en parte, por su distribución generalmente fragmentada. En este capítulo se emplean Modelos de Distribución de Especies (MDE) para definir las áreas de distribuciones potenciales de tres especies de *Ctenomys* de la costa atlántica y áreas continentales de Argentina. Para la realización de los mismos, y mediante el uso del software Maxent, se modelaron dichas áreas para las especies *Ctenomys australis*, *Ctenomys talarum* y *Ctenomys* sp., algunas de las cuales se encuentran actualmente amenazadas, coexistiendo en un estrecho paisaje costero. Se llevaron a cabo dos estrategias distintas para seleccionar las variables ambientales. En primer lugar, se utilizaron variables bioclimáticas (Grupo 1), y en segundo lugar, bandas Landsat 8 y capas granulométricas (Grupo 2). Según las distribuciones conocidas de estas especies, las variables del Grupo 2 mostraron una mayor precisión a la hora de inferir sus distribuciones potenciales. Las variables más importantes que permitieron predecir la idoneidad del hábitat para las especies de tuco-tucos fueron, principalmente, la mayoría de las variables granulométricas y algunas bandas Landsat 8, como la banda 4 y 5, que están estrechamente relacionadas con la cobertura vegetal. También se analizó el nivel de superposición de nichos entre pares de especies, encontrándose que si bien existe cierto grado de superposición geográfica entre ellas, solo el par *C. australis*-*Ctenomys* sp. mostró nichos ecológicamente similares. Se concluye que las distribuciones potenciales de las especies de tuco-tucos se ajustan mejor a aquellos modelos que consideran las características particulares de los suelos así como su cobertura vegetal. Además, una resolución espacial más alta permite un mejor desempeño de los MDEs de *Ctenomys*, lo que era predecible para especies con distribuciones restringidas.

Introducción

Los roedores subterráneos del género *Ctenomys* (tuco-tucos) presentan ciertas peculiaridades que los hacen interesantes a la hora de estudiar sus patrones de distribución. Su entorno subterráneo, por un lado, brinda condiciones relativamente estables y simples (Nevo 1999), y por otro lado, estos animales presentan una movilidad muy limitada, con una distribución generalmente fragmentada de sus poblaciones locales (Lacey et al. 2000). Debido a todas estas características, los tuco-tucos representan modelos ideales para poner a prueba diversas hipótesis relacionadas a aquellos factores que delimitan los patrones del uso del espacio (Cutrera et al. 2010).

Algunos estudios han evidenciado que la convergencia morfológica encontrada entre las especies de roedores subterráneos (cuerpos cilíndricos, reducciones anatómicas como ojos, oídos, etc.), así como las similitudes comportamentales, se debe a las características particulares de su ambiente (Nevo 1999; Lacey et al. 2000). Sin embargo, también presentan importantes diferencias, como el tamaño corporal, que varía desde los 100 g hasta los 1000 g (Reig et al. 1990). A diferencia de muchos taxones de roedores, las especies de tuco-tucos tienden a presentar patrones de distribución alopátricos o parapátricos, registrándose muy pocos casos de simpatria. Esto podría deberse a que sus similitudes morfológicas y comportamentales dificultan la repartición de recursos y la subdivisión del nicho subterráneo (Lacey et al. 2000; Kubiak et al. 2015, 2017).

En relación a los patrones de distribución, actualmente solo se conocen cuatro especies de *Ctenomys* con distribución simpátrica; por un lado, *C. australis* con *C. talarum* sobre la costa sur de la provincia de Buenos Aires (Contreras y Reig 1965; Reig et al. 1990; Cutrera et al. 2010), son dos especies que muestran, en general, patrones de segregación de hábitat y selección diferencial en los tipos de suelo y cobertura vegetal (Comparatore et al. 1992; Vassallo 1998; Cutrera et al. 2010). Por otro lado, *Ctenomys flamarioni* con *Ctenomys minutus* sobre la costa sur de Brasil (Freitas 1995; Kubiak et al. 2015) también muestran segregación de hábitat cuando se encuentran en zonas de simpatria (Kubiak et al. 2015).

Sobre la Barrera Medanosas Austral (BMA), ubicada en la costa sur de la provincia de Buenos Aires, se encuentran tres especies de roedores subterráneos del género *Ctenomys*. *Ctenomys australis* y *C. talarum*, mencionadas anteriormente por presentar zonas de simpatria, son dos especies con patrones de distribuciones muy distintos. *C. australis* es una especie estrictamente endémica de esta región, presentando una

distribución restringida sobre la primer línea de dunas costeras, siendo un especialista estricto de hábitat arenoso caracterizado por suelos blandos con escasa cobertura vegetal (Mora et al. 2006, 2007; Fig. 1A). *Ctenomys talarum*, sin embargo, presenta una distribución más amplia que excede los límites de esta barrera medanosa, encontrándose también sobre la costa atlántica Noreste de la provincia de Buenos Aires (Contreras y Reig 1965) y en distintos sitios alejados de la costa bonaerense, como Sierra de la Ventana, Coronel Suarez, Saladillo y El Cazón (Quintana 2004; Mora et al. 2007; Mora et al. 2013). Esta especie, con preferencia de hábitat distinta a *C. australis*, ocupa generalmente áreas intermedanas de pastizal y áreas más continentales de dunas fijas, con suelos de mayor dureza y humedad, y con mayor cobertura vegetal (Malizia et al. 1991; Vassallo 1993, 1998; Mora et al. 2007; Fig. 1B). La tercera especie de tuco-tuco presente en la BMA, y que ha sido sugerida recientemente como una nueva especie de *Ctenomys* (Tomasco and Mora 2015; Austrich et al. 2017), es *Ctenomys* sp., que presenta una distribución aún más restringida que la de *C. australis*, encontrándose en zonas de mayor cobertura vegetal (para más detalles ver Introducción General; Fig. 1C). Se han reportado distintas zonas de simpatría entre *C. australis* y *C. talarum* (Reig et al. 1990; Cutrera et al. 2010); sin embargo, las zonas de simpatría entre *Ctenomys* sp. y *C. australis*, y entre *Ctenomys* sp. y *C. talarum*, aún no han sido reportadas, aunque han sido observadas en el campo.

La estructura de las comunidades constituidas por diferentes especies se ve afectada por numerosos factores bióticos y abióticos (Cameron 2000). La distribución espacial de los organismos juega un rol muy importante en la estabilidad de las poblaciones, influyendo de manera directa en la coexistencia de las especies (Tilman y Kareiva 1997). Debido a esto, desde el punto de vista de la conservación, ha resultado sumamente útil conocer las variadas respuestas que muestran distintas especies a las condiciones ambientales, incluyendo sus capacidades para adaptarse a los cambios que ocurren en su ambiente natural (Alsos et al. 2009). Distintas herramientas basadas en SIG y modelos diseñados para hipotetizar rangos de distribución espacial, han sido incorporadas recientemente al campo de la biología (Torres y Jayat 2010; Guisan et al. 2013). Para la aplicación de estas herramientas se debe primero discernir entre dos categorías de distribución: la “distribución real”, dada por los datos de ocurrencia de la especie, es decir, aquellos sitios en los que se ha capturado u observado individuos, y la “distribución potencial”, que representa aquellas áreas que tienen condiciones ambientales muy similares a los sitios donde se encuentran las especies, contando con

altas probabilidades de estar ocupadas por estas mismas (Phillips et al. 2006). Teniendo en cuenta estas diferencias, una de las herramientas que se utilizan cada vez más para predecir la distribución potencial de las especies es el Modelo de Distribución de Especies (MDE; Guisan y Thuiller 2005). Los MDEs establecen una relación entre las condiciones ambientales que existen en los lugares donde ocurre una especie, y encuentran otros lugares donde se satisface dicha relación (Elith y Leathwick 2009). Por lo tanto, este método predice la idoneidad ambiental en función de la presencia de especies en relación con las variables ambientales (Guisan y Thuiller 2005). Mediante estos modelos se pueden establecer hipótesis explícitas sobre la conectividad espacial entre poblaciones de una especie basándose en la disponibilidad ambiental (Wiens y Graham 2005; Kozak et al. 2008; Glor y Warren 2011). Debido a esto, es que los MDEs se han convertido en una herramienta necesaria para ser aplicada en distintas áreas de ecología y conservación (Elith et al. 2006; Rubio-Salcedo et al. 2017; Zhang et al. 2017; Bosso et al. 2017a), así como también en campos relacionados a la filogeografía y la genética del paisaje (Chan et al. 2011; Alvarado-Serrano y Knowles 2014).

A la luz de estos avances, resulta más factible incrementar los conocimientos respecto a la distribución potencial de las especies, lo cual se ha vuelto imprescindible dado los cambios ambientales producidos por el hombre. Entre estos cambios se encuentran la fragmentación y la pérdida de hábitat, procesos que están fuertemente asociados a la extinción de especies debido a la capacidad que tienen de modificar la abundancia poblacional, la diversidad genética y las áreas de distribución (Fahrig 2003; Schipper et al. 2008). El MDE es un enfoque teórico-metodológico útil para determinar el impacto que genera la pérdida de hábitat a nivel de especie y a distintas escalas de análisis (Mendoza et al. 2005; Elith y Leathwick 2009; Sánchez-Cordero et al. 2009).

Para aquellos estudios enfocados principalmente en la conservación, donde se vuelve imprescindible establecer áreas de manejo para las especies, no alcanza solo con disponer de la distribución conocida, ya que ésta no necesariamente representa la distribución completa de la especie, pudiéndose perder de vista ciertas zonas donde la especie esté probablemente presente. Por lo tanto, a la hora de llevar a cabo un plan de conservación, resulta más efectivo contar con la distribución potencial estimada a partir del análisis de su distribución conocida (Peterson 2006; Zhang et al. 2017; Bosso et al. 2017a). Así mismo, el área de distribución potencial de una especie no necesariamente representa el área total ocupada por la misma. Esta distribución potencial estará condicionada por una serie de variables ambientales (naturales y antrópicas) y

geográficas, las cuales pueden constituir en ciertas zonas barreras para la presencia de la especie. Debido a esto, la distribución potencial suele expresarse en términos de “probabilidad de ocurrencia” de la especie para una unidad geográfica determinada (Bustamante 1997).

Habiendo establecido la importancia del uso de los MDEs en estudios enfocados en el área de la conservación (así como también estudios genético-poblaciones), resulta imprescindible contar con un conjunto de ocurrencias de alta confiabilidad, con una adecuada selección de variables, y una correcta identificación de áreas de estudio; de este modo, la relación entre la presencia de una especie y las variables ambientales utilizadas para representar su nicho ecológico, estará debidamente reflejada (Thuiller et al. 2004; Guisan y Thuiller 2005). En relación a lo mencionado, los MDEs se realizan, generalmente, a macroescala, donde las variables ambientales como el clima son relevantes (Lahoz-Monfort et al. 2010). Aunque muchos estudios han demostrado que las variables bioclimáticas, derivadas de las interpolaciones de los datos de precipitación y temperatura, son importantes para determinar la distribución de las especies de mamíferos (Gutiérrez et al. 2014, 2015; Soley-Guardia et al. 2016), estos datos ambientales generalmente están disponibles en resoluciones gruesas (por encima de 1 km²). Recientemente, muchos modelos han incorporado el uso de datos de teledetección, demostrando ser de gran utilidad para modelar la distribución potencial de las especies, debido principalmente a su alta resolución (Lahoz-Monfort et al. 2010; Morán-Ordóñez et al. 2012; He et al. 2015). Landsat 8, particularmente, proporciona datos con una resolución espacial moderada y, debido a su sensor OLI, es más sensible a la variabilidad de la reflectancia de la superficie y menos influenciado por las condiciones atmosféricas (Ke et al. 2015); por lo tanto, el sensor Landsat OLI ha demostrado ser una fuente confiable de datos. Existe otro tipo de datos digitales, también de resolución espacial moderada, que ha proliferado en las últimas décadas para satisfacer la necesidad de una mayor información sobre suelos (Hartemink et al. 2008; Boettinger et al. 2010). Particularmente, las técnicas digitales de mapeo y modelados de suelos tienen el potencial de superar ciertas limitaciones impuestas por los estudios de suelos tradicionales, que requieren mucha mano de obra y resultan muy costosos (Grunwald et al. 2011). SoilGrids es un sistema para el mapeo digital de suelos a nivel global, que utiliza métodos de aprendizaje automático de última generación para mapear la distribución espacial de las propiedades del suelo en todo el mundo (<https://soilgrids.org>).

Independientemente del tipo de datos que se empleen para los MDE (derivados de variables con mayor o menor resolución), resulta muy efectivo determinar un umbral de probabilidad dentro del área de distribución potencial, a partir del cual poder establecer una alta probabilidad de la presencia de la especie (Liu et al. 2016). La mayoría de las técnicas de modelado (incluyendo el MDE) generan predicciones continuas, las cuales estarían representando la idoneidad relativa para la aparición de la especie (Liu et al. 2016). Pero para la mayoría de los problemas ecológicos, tales como el impacto del cambio climático (Bush et al. 2014; Muir et al. 2015), impacto de especies invasoras (Buckland et al. 2014), identificación de sitios para la reintroducción de especies (Bleyhl et al. 2015) y planes de conservación (Abade et al. 2014), se requiere de modelos binarios de distribución (presencia-ausencia), para lo cual se debe transformar la distribución continua en binaria mediante la elección de un umbral (Liu et al. 2016). Si bien es factible la pérdida de información mediante esta transformación, en muchos casos es la única forma de resolver problemas relacionados a la estimación de la distribución de las especies (Guillera-Arroita et al. 2015; Saupe et al. 2015). En la actualidad no existe un único procedimiento para establecer este umbral; el criterio que se emplee dependerá en gran parte de la especie en estudio (si cuenta con una distribución amplia o restringida), así como también se puede tener en cuenta aquellos métodos que han sido calificados como los mejores (Liu et al. 2005, 2016).

En este capítulo, el objetivo fue estimar las distribuciones potenciales de las tres especies de tuco-tucos que coexisten en el paisaje costero bonaerense utilizando MDEs. Por un lado, se puso a prueba la relevancia de las variables involucradas utilizando dos tipos de MDEs. El primer enfoque consideró solo variables bioclimáticas, que han demostrado ser relevantes en muchos estudios de distribución de especies de mamíferos, pero que tienen una baja resolución. Debido a la alta dependencia que presentan las especies de tuco-tucos con el ambiente subterráneo, también se realizó un segundo MDE considerando las bandas Landsat 8 y variables granulométricas. Por otro lado, se reportó nueva información sobre las áreas de contacto presentada por *Ctenomys* sp. en relación con *C. australis* y *C. talarum*. Aunque en otros estudios se han reportado interacciones interespecíficas entre *C. australis* y *C. talarum* en áreas simpátricas (Malizia et al. 1991; Comparatore et al. 1992; Cutrera et al. 2010), en el presente estudio se identificaron y se evaluaron aquellas variables ambientales que son relevantes para la predicción de la distribución de cada especie.

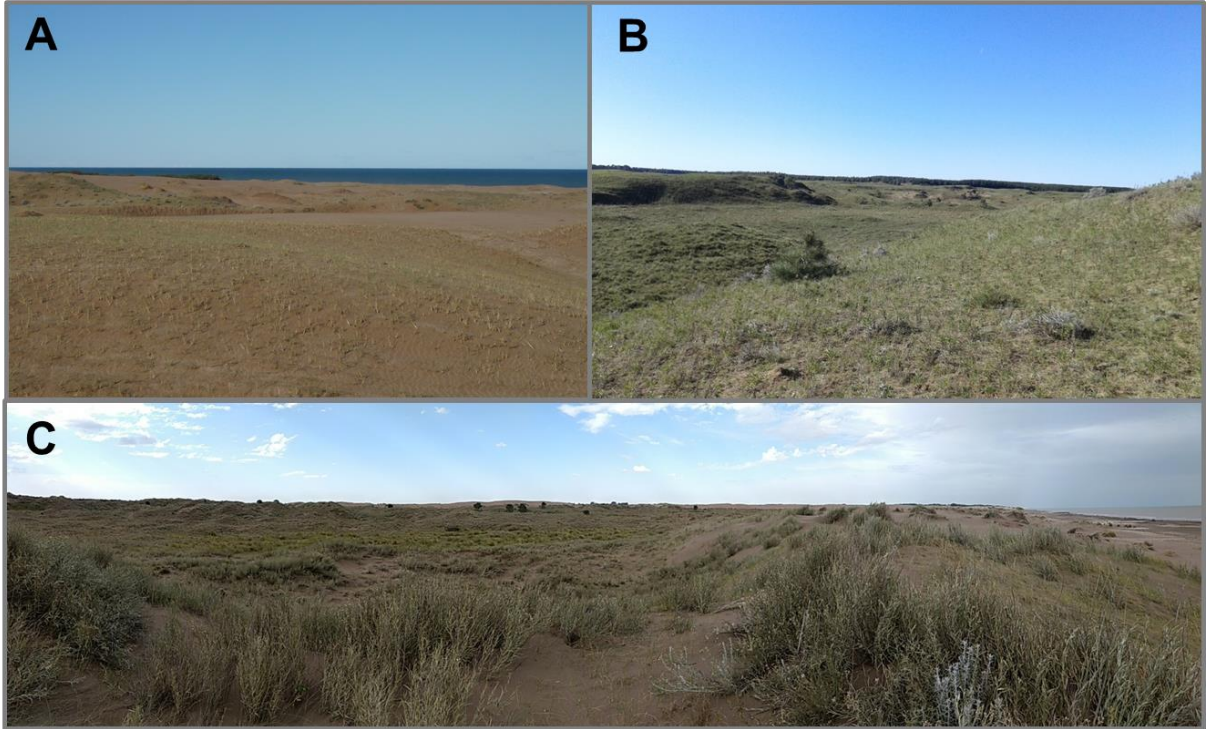


Figura 1. Diferentes tipos de ambientes en los que se encuentran las tres especies de tuco-tucos. A) Ambiente de *C. australis*; B) ambiente de *C. talarum*; y C) ambiente de *Ctenomys* sp.

Materiales y Métodos

Área de estudio y Especies focales

Las tres especies de *Ctenomys* incluidas en este estudio, aunque presentan distribuciones geográficas diferentes, coexisten en la BMA bonaerense. Esta región se caracteriza por presentar una gran heterogeneidad ambiental representada por diferentes tipos de dunas, con diferentes tipos de cobertura vegetal que van desde su escasa presencia hasta una alta abundancia (ver Capítulo I). Este sistema de dunas se haya interrumpido por factores naturales, como ríos y arroyos, y por factores antrópicos, como ciudades balnearias y forestaciones de diversos tamaños. En las últimas décadas, esta barrera medanosa ha mostrado indicios de un incremento gradual en la fragmentación de sus hábitats, interrumpiendo su dinámica natural (Isla et al. 2001; ver Capítulo I).

Debido a que las tres especies de tuco-tucos difieren en sus distribuciones geográficas, se seleccionaron diferentes extensiones de las áreas de estudio para las calibraciones del modelo. Según otros autores (Anderson y Raza 2010; Elith et al. 2011; Gutiérrez et al. 2014), la extensión del área de modelado debe corresponderse con un

área que sea accesible para una especie, minimizando la inclusión de regiones donde la especie no tiene acceso, debido a barreras físicas (ríos, montañas, etc.) o a interacciones bióticas (presencia de un competidor superior). Por lo tanto, es imprescindible tener en cuenta este tipo de factores, debido a que pueden estar implicados en el patrón de distribución de una especie, impidiendo la dispersión de los individuos hacia otras regiones (Peterson et al. 2011). De este modo, a la hora de modelar una distribución potencial es imprescindible conocer la historia natural de la especie, los patrones climáticos y de cobertura vegetal presentes en la región, para así obtener modelos más realistas (Anderson y Raza 2010). Así, y siguiendo lo reportado por los autores mencionados anteriormente, se seleccionaron tres áreas de estudio con diferentes extensiones para cada una de las especies de tuco-tucos involucradas en este estudio.

Como ha sido mencionado anteriormente, *C. australis* y *Ctenomys* sp. presentan una distribución restringida sobre la BMA. Esto representa un problema, ya que estas áreas no incluyen suficiente heterogeneidad ambiental para caracterizar las condiciones abióticas adecuadas para cada especie (Anderson y Raza 2010; Barve et al. 2011; Peterson et al. 2011; Anderson 2012). Para solucionar este problema, hemos seguido las recomendaciones de Kubiak et al. (2017) ampliando ambas áreas de estudio. La distribución conocida de *C. australis* está delimitada por la ciudad de Necochea (38° 34'S, 58° 42'O) al noreste y por la proximidad a Punta Alta al suroeste, y solo está presente en el primer rango de dunas de arena del hábitat costero (Contreras y Reig 1965; Mora et al. 2006, 2007; Fig. 2). Su presencia es notablemente evidente por los grandes montículos de arena en forma de medialuna producto de su actividad excavatoria (Fig. 3A). El área de estudio para esta especie, sobre la cual se decidió calibrar el modelo, abarcó 20 km de ancho desde la línea de costa hacia el interior de la provincia de Buenos Aires. Así mismo, si bien se tiene certeza de la ausencia de *C. australis* en el extremo este de la BMA (hacia el este de Necochea) y sobre toda la BMO, se desconoce si la especie podría estar presente en las dunas costeras ubicadas hacia el sur de la provincia de Buenos Aires. Debido a esto, se extendió el área de estudio hasta los límites del río Río Negro (40°59'S, 62°48'O). Aunque en el interior de la provincia de Buenos Aires no hay presencia de dunas de arena, la distancia de 20 km sirvió para solucionar el problema de la heterogeneidad espacial. Así, se considera que un área de 20 km de ancho fue más que suficiente, dada la limitada movilidad y capacidad de dispersión de estos ctenomidos (Lacey 2000). *Ctenomys* sp., con distribución conocida desde el arroyo Sauce Grande (38°59'S, 61°7'O) hasta las inmediaciones de Punta Alta, en el suroeste de la provincia

de Buenos Aires (Austrich et al. 2017; ver Capítulo 2), se limita principalmente a la segunda franja de las dunas costeras. Su presencia también es evidente por formar montículos de arena con formas similares a los de *C. australis*, aunque de menor tamaño (Fig. 3B). Al igual que para *C. australis*, se extendió 20 km de ancho el área de estudio para la calibración del modelo. Así mismo, debido a la información obtenida en el Capítulo II sobre la relación filogenética de *Ctenomys* sp. con el grupo de especies de tuco-tucos patagónicos, se decidió extender el área hasta los límites del río Río Negro. Al igual que para *C. australis*, no se sabe con certeza si esta nueva especie podría estar presente en los ambientes costeros del sur de Buenos Aires.

Finalmente, *C. talarum* ocupa una distribución geográfica más amplia en comparación a *C. australis* y *Ctenomys* sp. Debido a esto, la extensión del área de estudio para la calibración del modelo incluyó parte de las ecorregiones argentinas de la Pampa y el Espinal (Fig. 2), abarcando la provincia de Buenos Aires y fracciones de las provincias de La Pampa, Córdoba y Santa Fé. Los montículos que evidencian a esta especie tienen formas más irregulares (Fig. 3C).

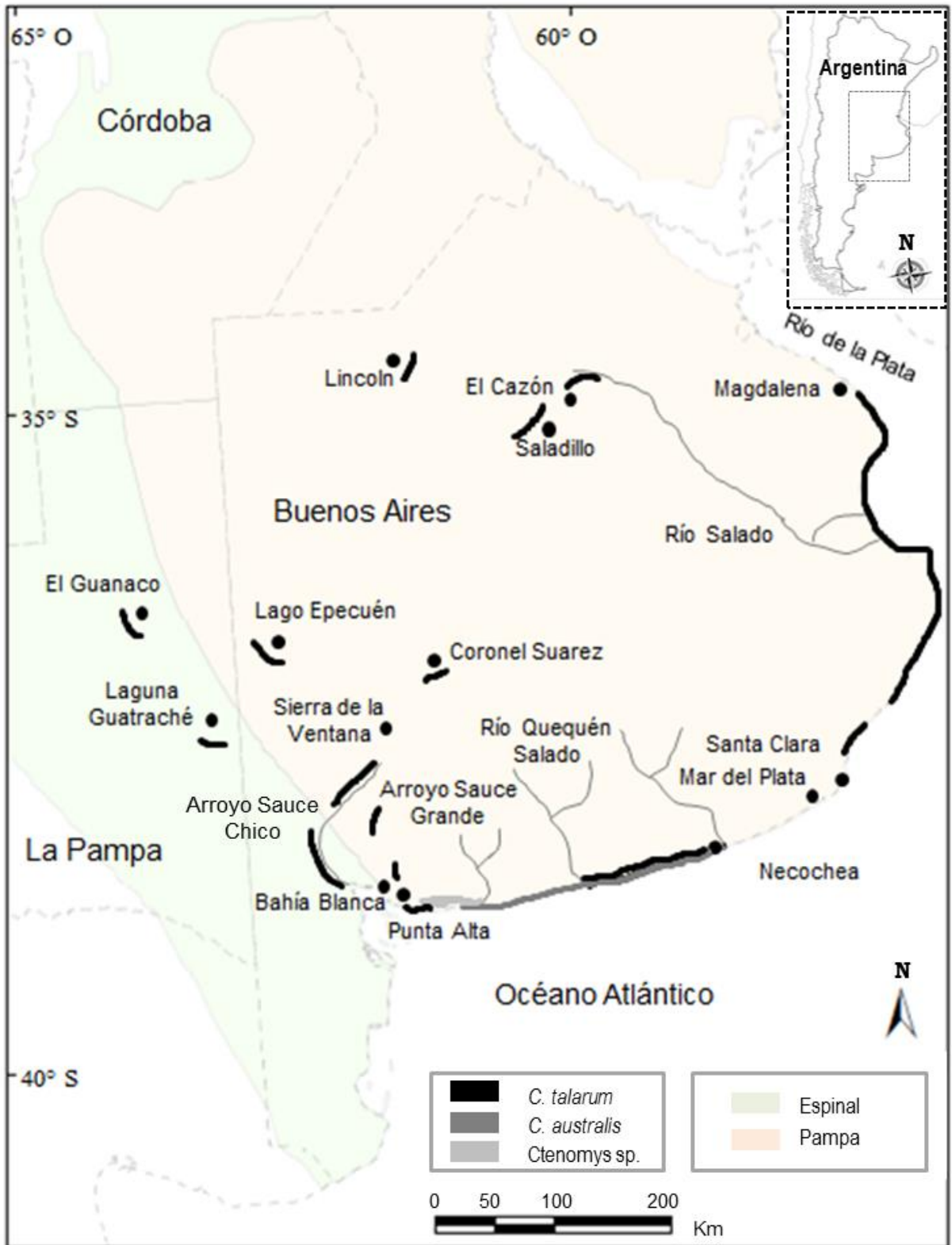


Figura 2. Distribución geográfica de *C. talarum* (líneas negras), *C. australis* (línea gris oscuro) y *Ctenomys* sp. (línea gris claro), y las ecorregiones en las que se ubican.

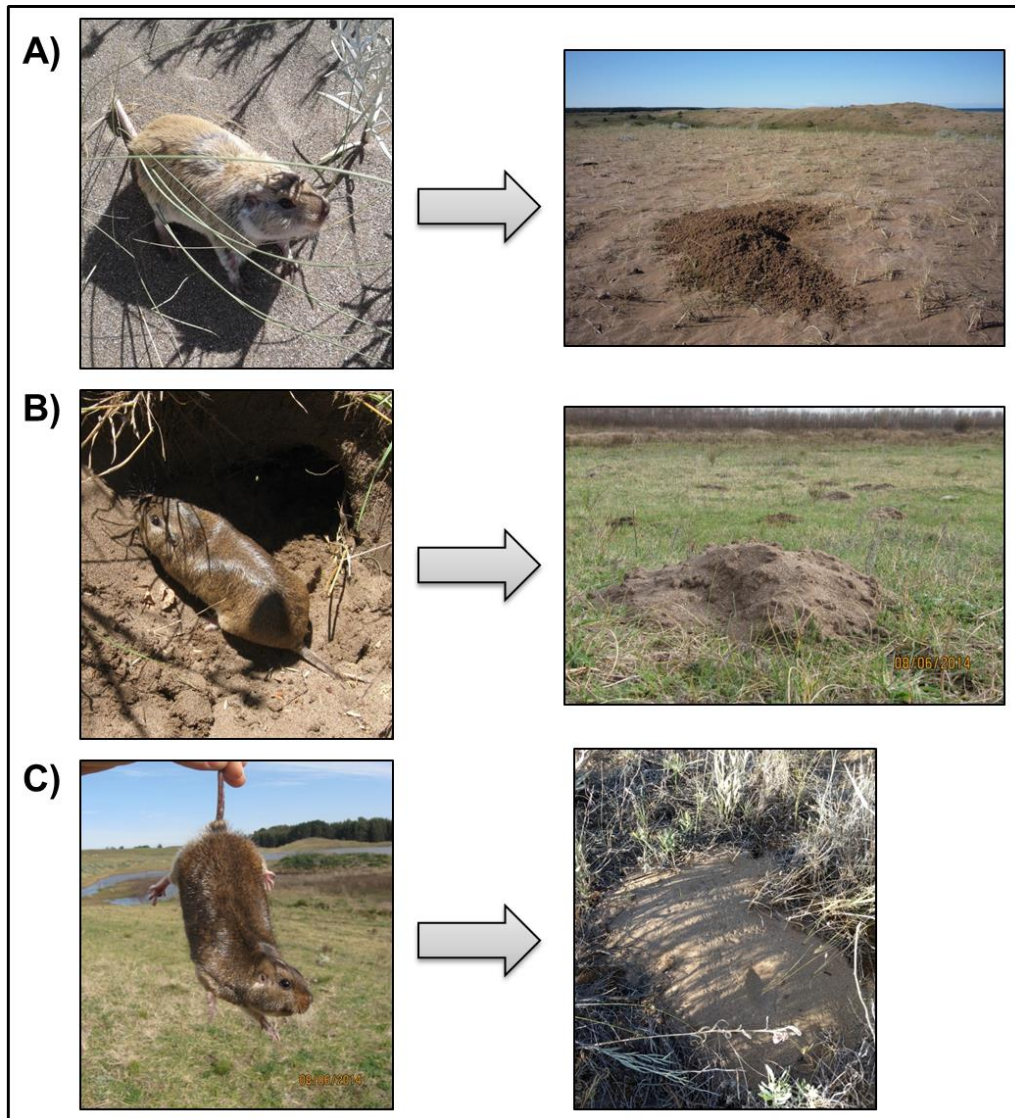


Figura 3. Fotografías de las tres especies de tuco-tucos y sus respectivos montículos. A) *C. australis*; B) *Ctenomys* sp.; C) *C. talarum*.

Fuente de datos

Para modelar las distribuciones potenciales de las tres especies, se ajustaron dos tipos de modelos basados en diferentes conjuntos de variables: 1) variables bioclimáticas y 2) imágenes satelitales Landsat 8 y variables granulométricas. Para los datos climáticos, se usaron 15 variables bioclimáticas derivadas de interpolaciones de datos de precipitación y temperatura, con una resolución de $\sim 1 \text{ km}^2$ disponibles en WorldClim (www.worldclim.org). Se excluyeron las cuatro capas que combinan información de precipitación y temperatura en una misma capa (Temperatura media del trimestre más

húmedo, Temperatura media del trimestre más seco, Precipitación del trimestre más cálido y Precipitación del trimestre más frío), ya que presentan problemas al ajustar los modelos (Escobar et al. 2014).

Para el otro conjunto de datos ambientales se usaron las bandas correspondientes a las imágenes satelitales Landsat (a excepción de la banda 8), descargadas gratuitamente de la página web Google Earth Engine (<https://explorer.earthengine.google.com>). Estas fueron: Banda 1 (Costera; estudios costeros y de aerosoles), Banda 2 (Azul; distingue el suelo de la vegetación, y la vegetación caducifolia de la vegetación de coníferas), Banda 3 (Verde; destaca los picos de máxima vegetación), Banda 4 (Roja; distingue las laderas de vegetación), Banda 5 (Infrarrojo cercano; destaca el contenido de biomasa), Banda 6 (Infrarrojo de Onda Corta 1; distingue la humedad del suelo y de la vegetación), Banda 7 (Infrarrojo de Onda Corta 2; mejora de la lectura de la humedad del suelo y la vegetación), Banda 9 (Cirros; detección de la contaminación en cirros), Banda 10 (Sensor Térmico Infrarrojo 1; mapeo térmico y humedad estimada del suelo), y Banda 11 (Sensor Térmico Infrarrojo 2; mapeo térmico y humedad estimada del suelo). Todas las imágenes fueron adquiridas durante el período de menor nubosidad, de junio a septiembre de 2017. También fueron seleccionadas a resoluciones intermedias, siendo así más precisas para los MDEs debido a la limitada movilidad y capacidad de dispersión de las especies, y a la pequeña extensión de las áreas de estudio para la calibración de los modelos (en particular, las de *C. australis* y *Ctenomys* sp., con distribución lineal muy restringida). De este modo, cada una de las bandas Landsat fué empleada como una variable ambiental, ya que se ha reportado en otros estudios que la inclusión de dichas bandas mejora la exactitud de los modelos, permitiendo un refinamiento en las predicciones mapeadas (Morán-Ordóñez et al. 2012). Si bien en algunos estudios es más común el uso de índices espectrales, que surgen de la combinación de distintas bandas Landsat, estos índices se focalizan en una franja estrecha del espectro electromagnético, excluyendo un rango de longitudes de onda que podrían proporcionar información ecológica para el MDE. De este modo, la ventaja de utilizar las bandas, es que a partir de sus valores de reflectancia cada modelo puede identificar los canales de longitud de onda mas relevantes (Morán-Ordóñez et al. 2012). Además de las bandas, se utilizaron cuatro variables relacionadas con la granulometría del suelo proporcionadas por el *International Soil Reference and Information Centre* (ISRIC), de la página web <https://soilgrids.org>; estas incluyen tres variables físicas del suelo: Contenido de arena (%), Contenido de arcilla (%) y Contenido

de limo (%); y una variable química del suelo: Contenido de carbono orgánico (gr x kg). Estas variables, que surgen a partir de modelos de predicción constituyendo mapas globales de propiedades del suelo a distintos intervalos de profundidad (Grunwald et al. 2011), resultan muy útiles para caracterizar la granulometría del suelo. De acuerdo al conocimiento que se tiene de estas especies de tuco-tucos (Malizia et al. 1991; Luna y Antinuchi 2007), las variables granulométricas presentaron diferente información de profundidad del sustrato; las variables se descargaron a 30, 60 y 100 cm de profundidad de suelo para *C. talarum*, *Ctenomys* sp. y *C. australis*, respectivamente. Todas las variables ambientales (10 bandas Landsat y cuatro capas granulométricas) tuvieron una resolución espacial de 250 m para *C. australis* y *Ctenomys* sp., y de 500 m para *C. talarum* ya que es la especie que presenta una mayor extensión de superficie geográfica.

Debido a que los registros de ocurrencia deben estar correctamente georreferenciados e identificados taxonómicamente para que los resultados sean lo más realistas posible (Gutiérrez 2016), recolectamos datos de ocurrencia a partir de nuestras observaciones directas en el campo y de estudios previamente publicados (Mora et al. 2006, 2007, 2013; Cutrera et al. 2010). Todas las localidades fueron georreferenciadas usando un GPS Garmin en el sitio donde se capturó un individuo, con posterior identificación molecular (Mora et al. 2013; Austrich et al. 2017). Para todos los casos se restringió el número original de ocurrencias georreferenciadas, y el número de ocurrencias empleadas para la calibración de los modelos considerando una ocurrencia por píxel, es decir, que este último número fue dependiente de las diferentes resoluciones espaciales (Tabla 1). Debido a la escasez de registros de ocurrencia de *Ctenomys* sp., y su distribución geográfica restringida, usamos todos los puntos de ocurrencia disponibles para esta especie (Tabla 1).

El uso de muchas variables correlacionadas en los MDEs puede resultar en una parametrización excesiva y pérdida de poder predictivo e interpretabilidad (Syfert et al. 2013). Por lo tanto, el conjunto final de variables se seleccionó después de tener en cuenta la multicolinealidad entre las mismas. Para ello se calcularon los factores de inflación de la varianza (FIV) utilizando R (paquete *mctest*, Imdad et al. 2016). Las variables con $FIV > 5$ se eliminaron del análisis (Moraitis et al. 2018; Sony et al. 2018). Este análisis se aplicó para ambos conjuntos de variables ambientales.

Tabla 1. Reporte del número original y del número subsiguiente de registros de ocurrencias utilizados para calibrar los modelos de cada especie.

Especie	Registro original de ocurrencias	Una ocurrencia por pixel	
		Variables Bioclimáticas	Bandas Landsta 8 y variables granulométricas
<i>C. australis</i>	748	67	155
<i>C. talarum</i>	420	63	65
<i>Ctenomys</i> sp.	112	90	112

Calibración y validación del modelo

Con el fin de modelar las áreas de distribución potencial para las tres especies de tuco-tucos, se optimizó la complejidad del modelo y el poder predictivo. Los modelos fueron construidos mediante un enfoque de modelado de máxima entropía implementado en el software Maxent 3.4.1 (Phillips et al. 2006); esta técnica ha tenido un desempeño muy favorable en comparación con otras alternativas analíticas para datos de solo presencia (Elith et al. 2006; Peterson et al. 2008). Este programa estima una distribución de probabilidad de presencia utilizando un algoritmo de máxima entropía, el cual se basa en la solución menos sesgada considerando algunas limitaciones como la asociación entre los registros de ocurrencias y las variables ambientales (para más detalles sobre los fundamentos técnicos de Maxent ver Phillips et al. 2006). Por lo tanto, en este estudio solo se usaron registros de presencia, los cuales son reportados en la Tabla 1 (aquellos que aparecen como "Una ocurrencia por píxel") para cada especie. Maxent creó aleatoriamente, para cada ejecución de cada modelo, 10.000 puntos de *background*.

Estudios recientes han demostrado la importancia de equilibrar la complejidad y el poder predictivo de los modelos, utilizando datos espacialmente independientes (Warren y Seifert 2011; Moreno-Amata et al. 2015). Por lo tanto, para evitar el sobreajuste del modelo y maximizar su poder predictivo, se empleó el paquete "ENMeval" de R (Muscarella et al. 2014) para seleccionar la óptima combinación de dos parámetros de Maxent, el valor del Multiplicador de Regularización (MR) y la combinación de *feature clases* (FC). El parámetro MR protege el modelo de un sobreajuste penalizando la

inclusión de cada término (Phillips et al. 2006; Anderson y Gonzalez 2011). Esta penalidad se presenta como un parámetro específico de regularización β para cada clase de entidad. El parámetro FC permite determinar la complejidad de las curvas de respuesta (no lineales) para las variables involucradas (Merow et al. 2013). Se probaron distintos valores de MR, desde 0,5 a 5 en incrementos de 0,5, y los siguientes FC (o combinaciones de las mismas): (1) lineal y cuadrático, (2) *hinge*, (3) lineal e *hinge*, (4) cuadrático e *hinge*, y (5) lineal, cuadrático e *hinge*. También se evaluó la partición geográfica de los datos utilizando un esquema "checkerboard1" (Radosavljevic and Anderson 2014). Luego, se seleccionaron los parámetros MR y FC que obtuvieron el valor de Criterio de información de Akaike corregido para muestras pequeñas (AICc) más bajo (Warren y Seifert 2011; Radosavljevic y Anderson 2014). Para ambos MDEs (con variables bioclimáticas y con imágenes satelitales Landsat conjuntamente con variables granulométricas), se realizaron 10 corridas independientes en Maxent con 5.000 iteraciones cada una. Para los modelos de *C. australis* y *C. talarum*, en cada corrida Maxent selecciono al azar, mediante el método de submuestreo, el 25% de las ocurrencias para ser implementadas en la validación del modelo; el 75% de las ocurrencias se implementan como datos de entrenamiento. Debido a que *Ctenomys* sp. tiene distribución muy restringida, con puntos de ocurrencias muy cercanos entre sí, la primera corrida realizada en Maxent mostró resultados de autocorrelación espacial, para ambos conjuntos de variables. Trabajos previos revelaron que la probabilidad de sobreestimar las estadísticas de validación del modelo se incrementa considerablemente cuando se incluyen localidades que no son espacialmente independientes (Hampe 2004; Luoto et al. 2005). Por lo tanto, para evitar el uso de puntos de ocurrencia que no fueran espacialmente independientes, se generaron 10 "input" independientes (tanto de entrenamiento como de prueba) mediante un método de remuestreo aleatorio, condicionando así la representación de los puntos de ocurrencia con respecto a los vecinos más cercanos. Luego, cada conjunto de datos de entrenamiento con su correspondiente conjunto de prueba fue ejecutado en Maxent de manera individual.

El formato de salida elegido para todos los modelos correspondientes a las tres especies de tuco-tucos fue el logístico, que puede interpretarse como la probabilidad de condiciones ambientales adecuadas para una especie (Merow et al. 2013). Para *C. australis* y *C. talarum*, se utilizó el modelo promedio correspondiente a las diez corridas llevadas a cabo en Maxent. En el caso de *Ctenomys* sp., se utilizó el paquete "Dismo" de R para obtener el modelo promedio de distribución potencial.

El rendimiento de los MDEs se evaluó utilizando la métrica AUC (*Area Under the receiver operating characteristic (ROC) Curve*). La media de esta métrica se obtuvo a partir de 10 ejecuciones replicadas para cada modelo. Esta métrica de validación (AUC; Phillips et al. 2006) es independiente del umbral, y se calcula mediante la "sensibilidad" (proporción de presencias predichas correctamente) y la "especificidad" (proporción de ausencias predichas correctamente). Se ha utilizado ampliamente y ofrece un rendimiento excelente (Elith et al. 2006; Morueta-Holme et al. 2010; Smeraldo et al. 2017); así, los modelos que obtuvieron $AUC > 0,75$ se consideraron robustos, lo que indica un buen desempeño del modelo (Elith et al. 2006; Morueta-Holme et al. 2010). Más allá de considerar esta métrica para evaluar el desempeño de los modelos, también se consideraron estudios previos en los que se presenta información sobre las distribuciones de las especies de este estudio (Vasallo 1998; Justo et al. 2003; Quintana 2004; Mora et al. 2006, 2007, 2010, 2013; Cutrera y Mora 2017; Austrich et al. 2020a); luego, esta información se comparó con las distribuciones predichas por los modelos. Respecto a este último punto, se considera que los conocimientos previos respecto de las distribuciones de las especies no deben ser ignorados, teniéndoselos en cuenta a la hora de evaluar el desempeño de los modelos.

Se utilizaron pruebas Jackknife para evaluar la contribución de las variables a cada modelo. Además, para aquellas variables que mostraron una mayor contribución, se analizaron las curvas de respuesta, es decir, en qué grado estas variables explican la distribución de la especie (Phillips et al. 2006).

Finalmente, se aplicó un umbral logístico para convertir las predicciones continuas de Maxent (probabilidad de 0 a 1) en capas binarias (hábitat adecuado/hábitat inadecuado). Aunque la elección de un umbral es determinante para la distribución potencial obtenida y para la identificación de áreas de potencial simpatria, aún no existe un criterio único para su selección (Liu et al. 2005). Se usó la función "Threshold" del paquete *Dismo* de R para encontrar un umbral donde la suma de falsos positivos y falsos negativos sea mínima; este criterio de umbral se mencionará más adelante como Criterio de Umbral 1 (CU1). Además, y solo para aquellos modelos que mostraron un pobre desempeño, dando como resultado mapas binarios poco realistas a partir del CU1, se aplicó otro criterio de umbral. El Umbral logístico de igual sensibilidad y especificidad (*Equal training sensitivity and specificity Logistic threshold*; Cantor et al. 1999) es conocido como uno de los más eficientes y recomendados para usar (Liu et al. 2005); este criterio de umbral se mencionará como Criterio de Umbral 2 (CU2).

Por último, debido a que las ciudades y villas balnearias tienen un rango espectral muy similar a las áreas de arena (ver Capítulo I), estas fueron digitalizadas y enmascaradas a partir de los modelos de predicción binarios. De este modo no podrán ser identificadas como áreas potencialmente adecuadas para las especies.

Solapamiento de Nicho

Se cuantificó la superposición de nichos entre las especies en estudio utilizando dos enfoques metodológicos: primero, se evaluó la cantidad de superficie solapada entre pares de especies; segundo, se estimó la superposición de nichos ambientales entre pares de especies siguiendo a Broennimann et al. (2012).

Para evaluar la superposición geográfica entre pares de especies, se usaron los mapas binarios de cada una de ellas para calcular las superficies (km²) de sus distribuciones. Para esto, debido a que los mapas binarios presentan diferentes extensiones y resoluciones, el primer paso consistió en adaptar aquellos mapas de mayor extensión y menor resolución, a las mismas características que la de los mapas más pequeños y de mayor resolución. Es decir, el mapa binario de *C. talarum* (de mayor tamaño y menor resolución), fue adaptado a la misma extensión y resolución que el mapa binario de *C. australis*. De este modo, ambos mapas presentan tamaños de píxeles idénticos (250 m), coincidentes en toda su extensión. Para el caso de *C. talarum* – *Ctenomys* sp., el mapa binario de *C. talarum* se adaptó al de *Ctenomys* sp. (resolución de 250 m); y por último, el mapa de *C. australis* se adaptó solo en extensión al mapa binario de *Ctenomys* sp., ya que ambos mapas presentan originalmente la misma resolución (250 m). Una vez que todos los mapas binarios fueron adaptados a distintas extensiones y resoluciones, se calculó la superficie de contacto entre las especies. Estos procedimientos se realizaron con ArcGIS 10.2.2 (ESRI 2014).

La superposición de nichos entre cada par de especies se evaluó utilizando la métrica D de Schoener que varía de 0 (sin superposición) a 1 (superposición completa). La métrica D se calculó con una función de densidad de núcleo (*kernel density*) aplicada a las densidades de ocurrencias de las especies (Broennimann et al. 2012). Esta métrica se calculó entre todos los pares de especies utilizando el paquete R *Ecospat* (Broennimann et al. 2018). Siguiendo a Broennimann et al. (2012), se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para asociar el espacio ambiental con las densidades de ocurrencia de las especies. El espacio ambiental se define como una cuadrícula que refleja los dos primeros ejes del ACP, donde se mapean las densidades de ocurrencia.

Debido a que las variables utilizadas para modelar la distribución potencial de cada especie fueron seleccionadas a partir de un análisis de multicolinealidad, cada especie presentó un conjunto de variables específicas. Por tanto, para el enfoque de ACP se utilizaron solo aquellas variables que tienen en común los diferentes pares de especies.

Finalmente, se llevó a cabo una prueba de equivalencia de nicho que determina cuán idénticos son dos nichos entre sí (Broennimann et al. 2012). Las ocurrencias de dos especies se agrupan y se reasignan aleatoriamente en dos conjuntos de datos para calcular el valor D. Este proceso se repite 100 veces para generar una distribución nula de la métrica D. Si el valor observado de D cae dentro de la densidad del 95% de los valores simulados, entonces la hipótesis nula de equivalencia de nicho no puede rechazarse. Si el test de equivalencia de nicho es estadísticamente significativo ($p < 0,05$), no hay evidencia para aceptar la hipótesis nula de equivalencia de nicho, por lo que se interpreta que los nichos evaluados son ecológicamente distintos (Broennimann et al. 2012).

Resultados

Calibración y validación del modelo

Variables Bioclimáticas

Aunque los modelos exhibieron valores de AUC superiores a 0,89 (Tabla 2), la inspección visual de los MDEs mostró una sobreestimación significativa de las áreas con alta probabilidad de ocurrencia en relación con la distribución geográfica conocida de cada especie (ver Figuras 4, 5 y 6 para *C. australis*, *C. talarum* y *Ctenomys* sp., respectivamente). Los MDEs de *C. australis* y *Ctenomys* sp. mostraron una sobreestimación significativa con respecto a los límites de la BMA, de la cual las especies son endémicas. El MDE de *C. talarum* incluyó como hábitat potencial diferentes zonas del interior de la provincia de Buenos Aires donde se ha comprobado su ausencia. El número final de variables bioclimáticas incluidas en los MDEs de tuco-tucos fueron entre cuatro y cinco (Tabla 2). El análisis para seleccionar la configuración óptima de Maxent para modelar las distribuciones potenciales de las especies, identificó como FC óptimo la combinación lineal e *hinge*, mostrando el mejor desempeño para *C. australis* y *C. talarum*. Para *C. australis*, el valor óptimo de MR fue de 0,5, mientras que para *C. talarum* fue de 1 (Anexos 1 y 2). Para *Ctenomys* sp., el modelo final tuvo una combinación de FC cuadrático e *hinge*, y un valor de MR de 0,5 (Anexo 3).

Al aplicar el CU1, los mapas binarios obtenidos para todas las especies fueron muy poco realistas, mostrando una subestimación significativa con respecto a la distribución geográfica reportada de las mismas (Anexos 4, 5 y 6 para *C. australis*, *C. talarum* y *Ctenomys* sp., respectivamente). Adicionalmente, se aplicó otro criterio de umbral, el CU2, y los mapas binarios obtenidos con este umbral tampoco mostraron distribuciones potenciales acordes a las distribuciones geográficas conocidas de las especies; esto se debe a que hubo una sobreestimación significativa de las áreas con condiciones abióticas adecuadas para las mismas (Anexos 4, 5 y 6). Por lo tanto, se decidió no considerar estos MDEs construidos a partir de variables bioclimáticas para la estimación de las áreas de hábitat potencial, debido a que no fue posible ajustar un modelo aceptable para ninguna de las especies en estudio.

Tabla 2. Evaluación de los MDEs correspondientes a cada especie construidos con variables bioclimáticas, utilizando el Área Bajo la Curva (AUC). También se reporta el conjunto final de variables elegidas para la construcción del modelo y sus correspondientes Factores de Inflación de la Varianza (FIV).

Especie	AUC		Variables	FIV
	Media	SD		
<i>C. australis</i>	0,90	0,015	Isotermalidad	4,20
			Temperatura media del trimestre más cálido	1,81
			Temperatura media del trimestre más frío	1,13
			Precipitación del mes más húmedo	3,87
<i>C. talarum</i>	0,89	0,036	Temperatura media anual	1,39
			Isotermalidad	2,36
			Precipitación del mes más húmedo	2,58
			Precipitación del mes más seco	2,98
			Precipitación del trimestre más húmedo	3,03
<i>Ctenomys</i> sp.	0,99	0,004	Rango de temperatura diurno medio	1,63
			Isotermalidad	1,60
			Temperatura mínima del mes más frío	4,99
			Estacionalidad de la precipitación	1,36
			Precipitación del trimestre más seco	4,82

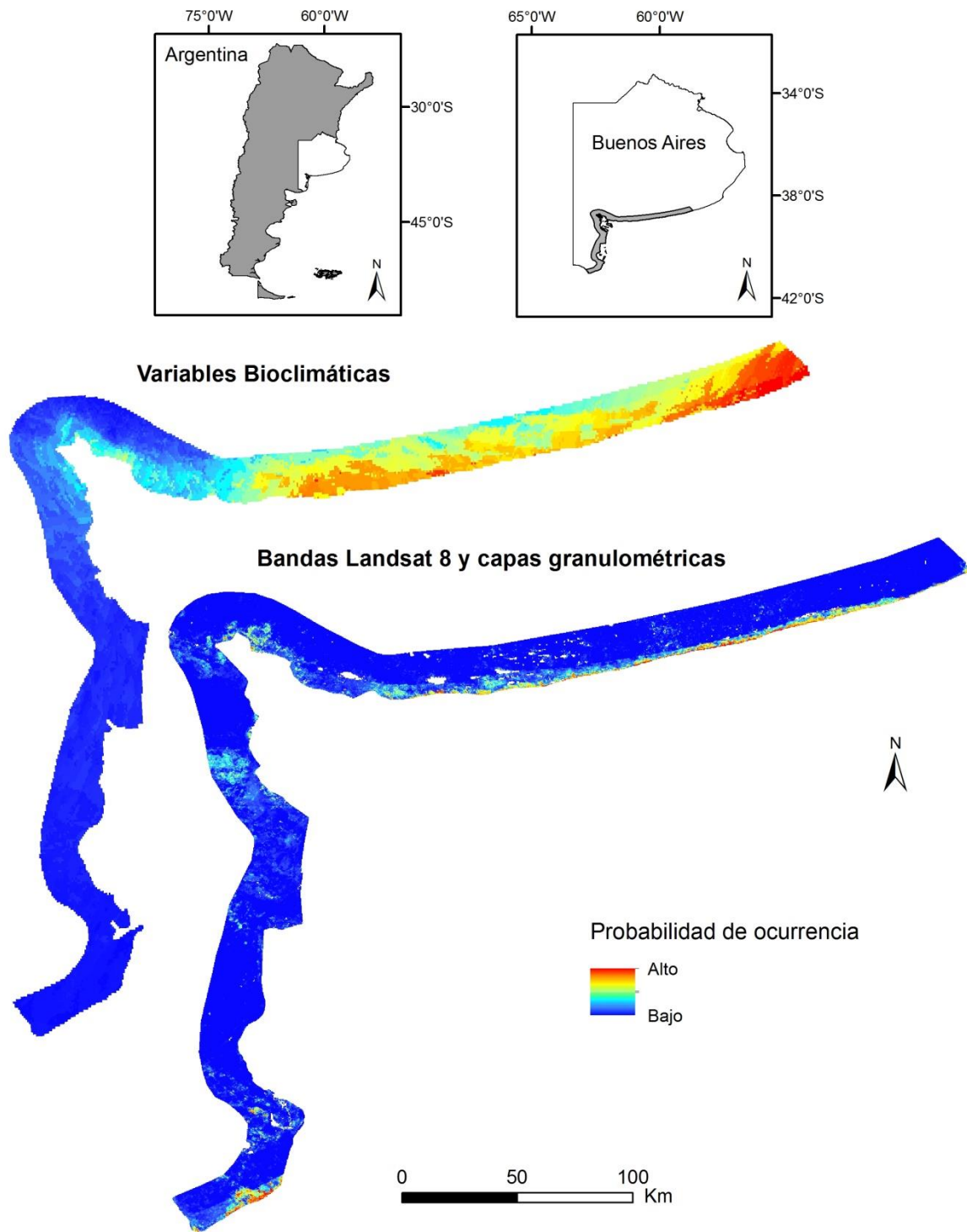


Figura 4. Modelos de distribución de especies para *C. australis*. Los mapas muestran la distribución de la idoneidad del hábitat (predicciones continuas) en la extensión del área de estudio, representada por los dos tipos de modelos (Variables bioclimáticas - Bandas

Landsat 8 y capas granulométricas). Las predicciones con alta probabilidad de ocurrencia se indican con color rojo (hábitat perfectamente adecuado), disminuyendo hacia el azul (hábitat inadecuado).

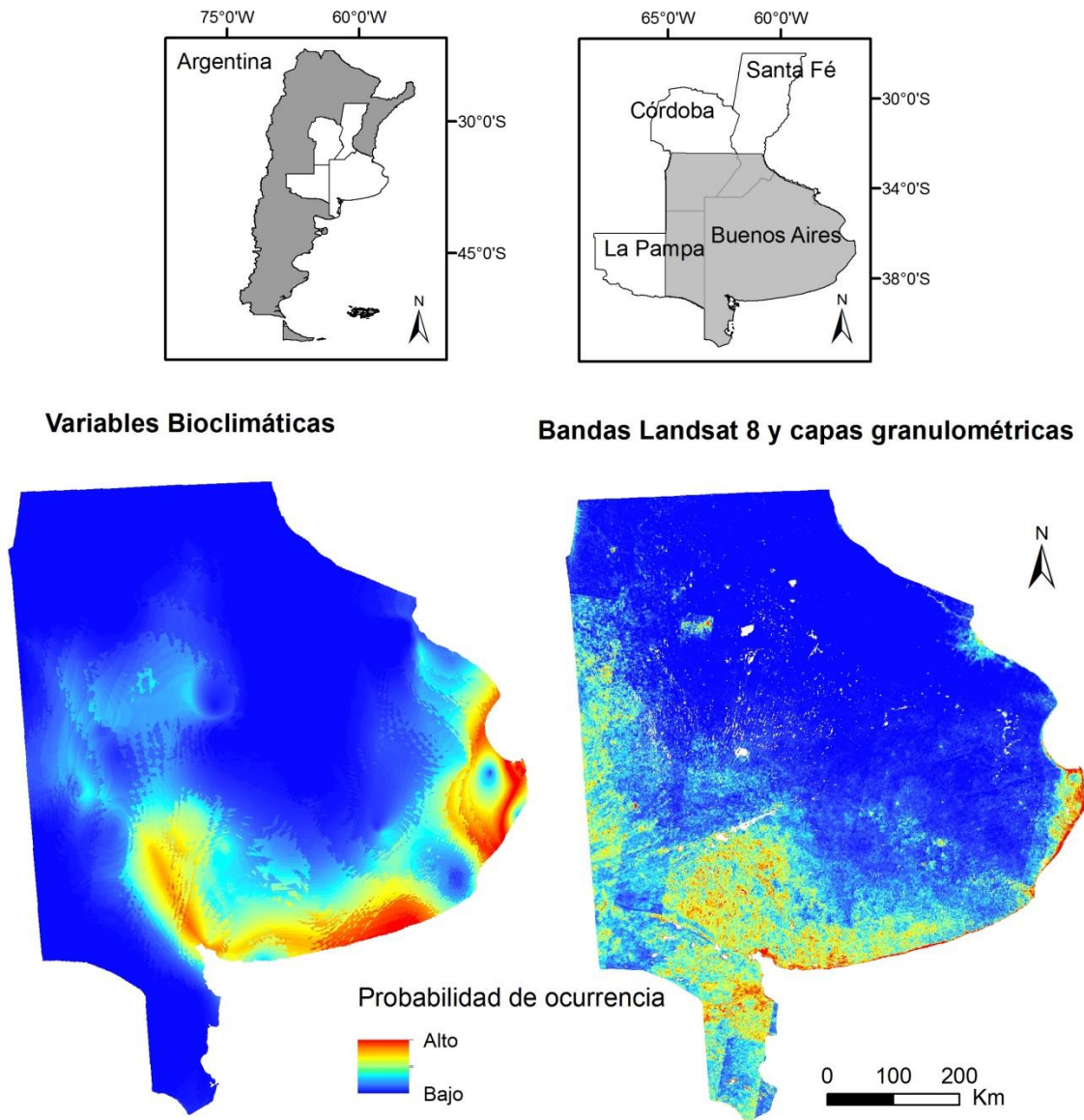


Figura 5. Modelos de distribución de especies para *C. talarum*. Los mapas muestran la distribución de la idoneidad del hábitat (predicciones continuas) en la extensión del área de estudio, representada por los dos tipos de modelos (Variables bioclimáticas - Bandas Landsat 8 y capas granulométricas). Las predicciones con alta probabilidad de ocurrencia

se indican con color rojo (hábitat perfectamente adecuado), disminuyendo hacia el azul (hábitat inadecuado).

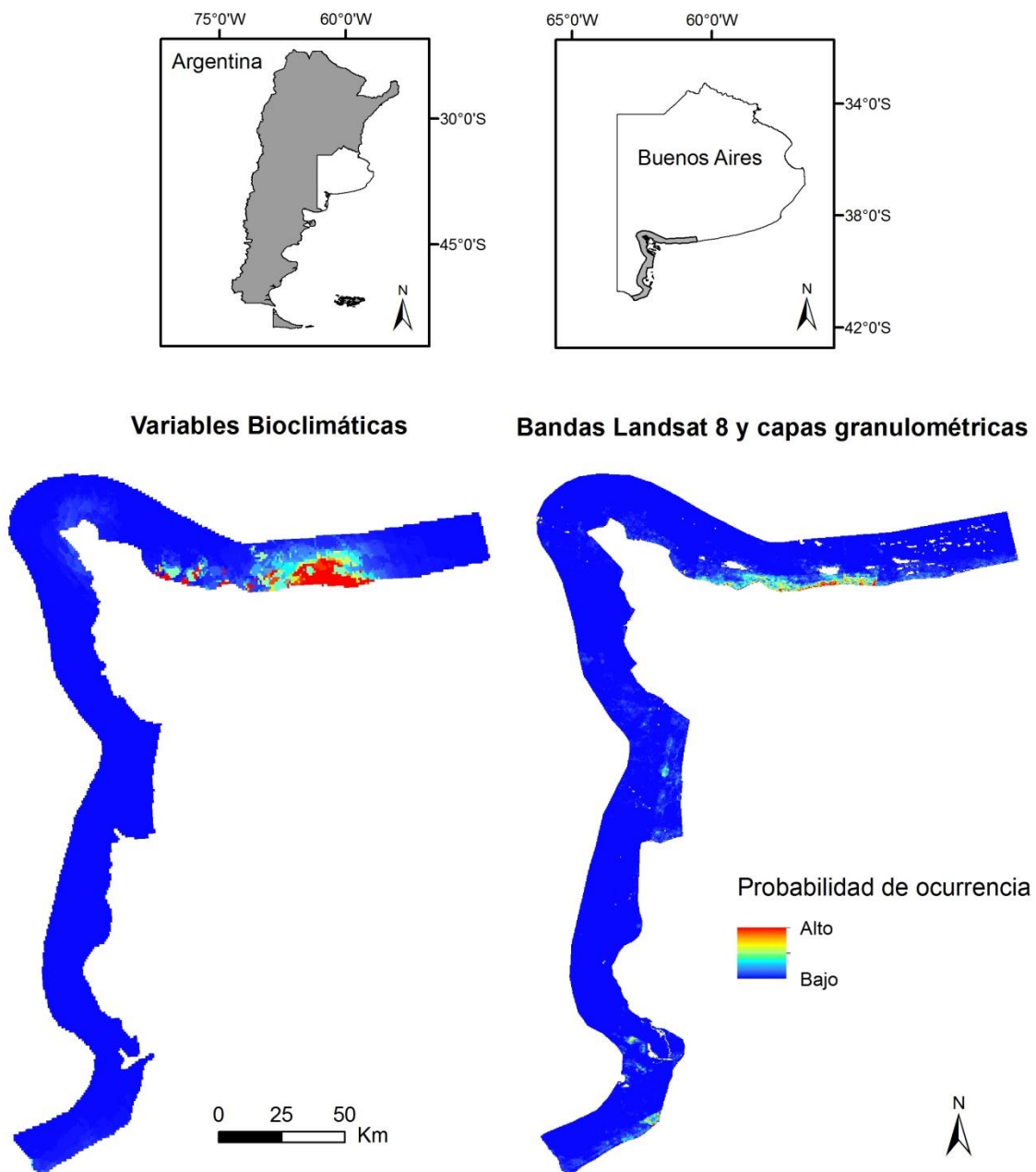


Figura 6. Modelos de distribución de especies para *Ctenomys* sp. Los mapas muestran la distribución de la idoneidad del hábitat (predicciones continuas) en la extensión del área de estudio, representada por los dos tipos de modelos (Variables bioclimáticas - Bandas

Landsat 8 y capas granulométricas). Las predicciones con alta probabilidad de ocurrencia se indican con color rojo (hábitat perfectamente adecuado), disminuyendo hacia el azul (hábitat inadecuado).

Imágenes satelitales Landsat y variables granulométricas

Todos los MDEs mostraron un muy buen desempeño, con valores de AUC superiores a 0,88 (Tabla 3). La inspección visual de los MDEs mostró que las áreas con una alta probabilidad de ocurrencia (para cada especie) estuvieron cercanamente alineadas con sus distribuciones conocidas (Fig.1; ver también Figs. 4, 5 y 6 para *C. australis*, *C. talarum* y *Ctenomys* sp., respectivamente); esto también reveló que el criterio de umbral seleccionado para generar los mapas binarios fue acorde para las tres especies. En general, el número de variables incluidas en los modelos finales para las tres especies de tuco-tucos estuvo entre ocho y diez, con todas las variables granulométricas siempre presentes (Tabla 3). Si bien la variable Contenido de arena, para *C. australis*, presentó un $FIV > 5$ (7,73; Tabla 3), se incluyó en el modelo final debido a la importancia biológica para la especie.

El modelo final para *C. australis* tuvo una combinación óptima de FC cuadrática e *hinge* y un valor de MR de 1 (Anexo 7). Las variables Contenido de arena (%), Contenido de arcilla (%), Contenido de limo (%) y las Bandas Landsat 4 y 5, mostraron una alta relevancia para la predicción del modelo de *C. australis* de acuerdo a la prueba de “Jackknife” (Fig. 7A). El modelo predijo una alta probabilidad de ocurrencia en áreas con alto contenido de arena, bajo contenido de arcilla y limo, y con valores relativamente bajos para la banda 4 y la banda 5, lo que indica una cobertura vegetal muy baja (Fig. 8). El umbral logístico utilizado para convertir las predicciones continuas de Maxent (probabilidad de 0 a 1) en capas binarias (hábitat adecuado/inadecuado) fue de 0,35, lo que indica una ausencia por debajo de este valor. Este modelo predijo 429 km² de hábitat adecuado para *C. australis*, incluyendo áreas de dunas vivas y semifijas, evitando aquellas áreas con forestación o áreas de dunas con alta cobertura vegetal, como las dunas fijas o depresiones interdunales (Fig. 9).

El modelo final para *C. talarum* presentó una combinación de FC lineal y *hinge*, y un valor óptimo de MR de 2 (Anexo 8). Las variables Contenido de arena (%), Contenido de limo (%) y Banda Landsat 4 fueron las más relevantes en relación a la predicción del modelo, de acuerdo con la prueba de “Jackknife” (Fig. 7B). El modelo predijo una alta probabilidad de ocurrencia de la especie en áreas caracterizadas por alto contenido de

arena, bajo contenido de limo y alto valor para la Banda Landsat 4 (Fig. 8). De acuerdo al umbral logístico seleccionado para esta especie, que indica ausencia por debajo de una probabilidad de presencia de 0,72, este modelo predijo 2692 km² de hábitat adecuado que corresponde, principalmente, con sectores de los hábitats costeros y varios parches pequeños distribuidos de manera discontinua sobre el suroeste de la distribución geográfica (Fig. 10). Además, como en *C. australis*, la predicción evitó aquellas áreas con forestaciones presentes.

El modelo final de *Ctenomys* sp. presento el FC *hinge* y un valor óptimo de MR de 1 (Anexo 9). Las variables Contenido de arena (%), Contenido de arcilla (%) y Banda Landsat 10 fueron las más relevantes para la predicción del modelo según la prueba de “Jackknife” (Fig. 7C). El modelo predijo una alta probabilidad de ocurrencia de la especie en áreas caracterizadas por altos contenido de arena, bajo contenido de arcilla y altos valores de la Banda Landsat 10 (Fig. 8). Según el umbral logístico seleccionado para esta especie, que indica ausencia por debajo de una probabilidad de presencia de 0,28, este modelo predijo 138 km² de hábitat adecuado incluyendo, principalmente, el sector de hábitat costero donde la especie se distribuye geográficamente (Fig. 11).

Tabla 3. Evaluación de los MDEs correspondientes a cada especie construidos con Bandas Landsat 8 y variables granulométricas, utilizando el Área Bajo la Curva (AUC). También se reporta el conjunto final de variables elegidas para la construcción del modelo y sus correspondientes Factores de Inflación de la Varianza (FIV).

Especie	AUC		Variables	FIV
	Media	SD		
<i>C. australis</i>	0,95	0,009	Contenido de arena	7,73
			Contenido de arcilla	4,25
			Contenido de limo	4,88
			Contenido de carbono orgánico	1,40
			Band 4	2,12
			Band 5	2,04
			Band 9	1,42
			Band 10	2,51
<i>C. talarum</i>	0,88	0,046	Contenido de arena	1,30
			Contenido de arcilla	1,19
			Contenido de limo	1,28
			Contenido de carbono orgánico	1,49
			Band 4	2,01
			Band 5	1,85
			Band 7	3,65
			Band 9	1,46
<i>Ctenomys sp.</i>	0,96	0,011	Contenido de arena	1,49
			Contenido de arcilla	1,57
			Contenido de limo	1,43
			Contenido de carbono orgánico	1,24
			Band 1	4,47
			Band 3	3,91
			Band 5	1,62
			Band 6	1,47
Band 9	1,12			
Band 10	1,81			

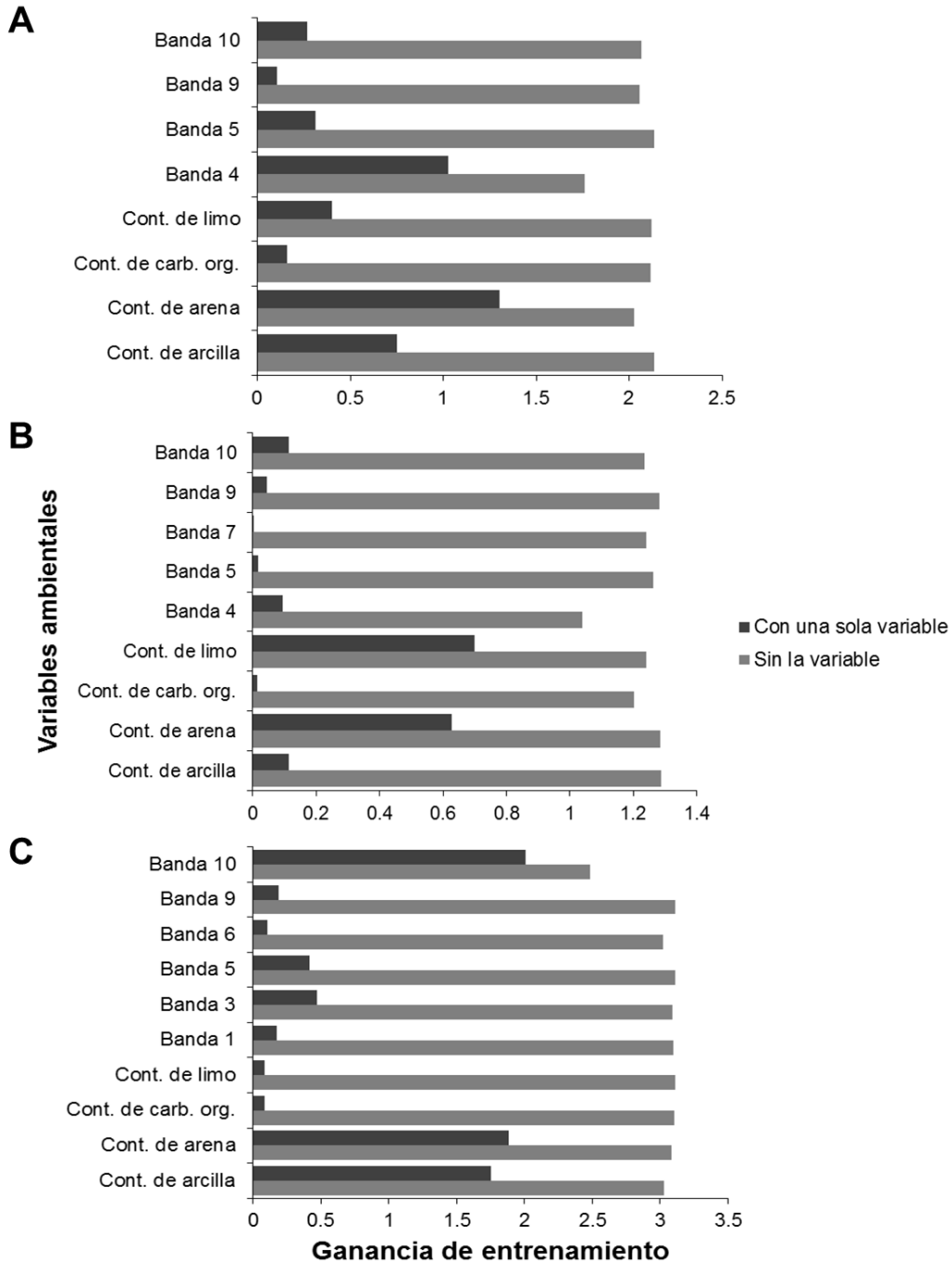


Figura 7. Prueba “Jackknife” mostrando la importancia relativa de las diferentes variables ambientales en los modelos de Maxent de **(A)** *C. australis*, **(B)** *C. talarum* y **(C)** *Ctenomys* sp. Las barras “Con una sola variable” indican la ganancia de los modelos si cada variable es considerada de forma independiente; las barras “Sin la variable” indican la ganancia de los modelos cuando se excluye una variable a la vez, creando un modelo con las variables restantes.

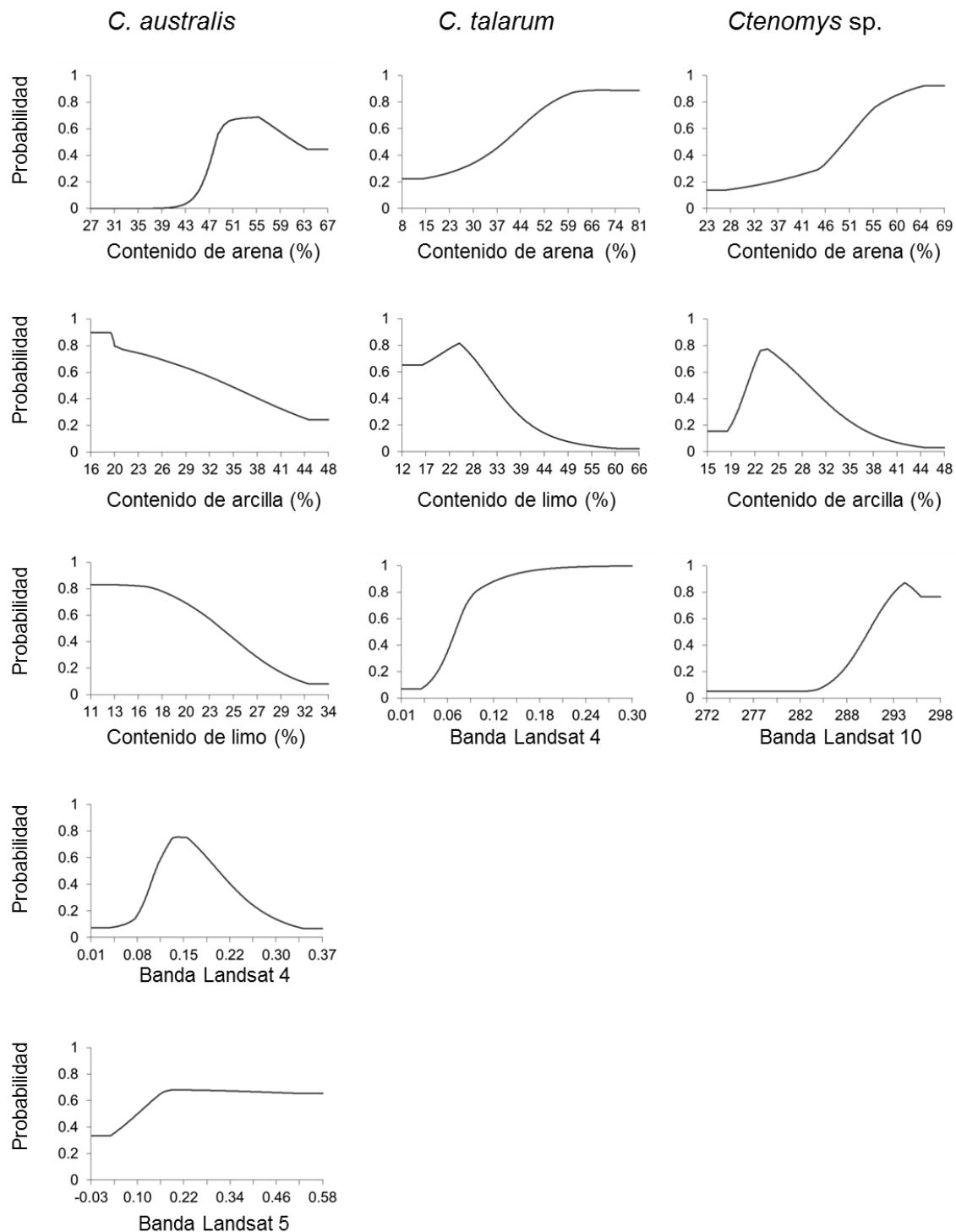


Figura 8. Curvas de respuesta que muestran las relaciones entre las variables ambientales relevantes para los modelos y la probabilidad de ocurrencia de *C. australis*, *C. talarum* y *Ctenomys sp.*

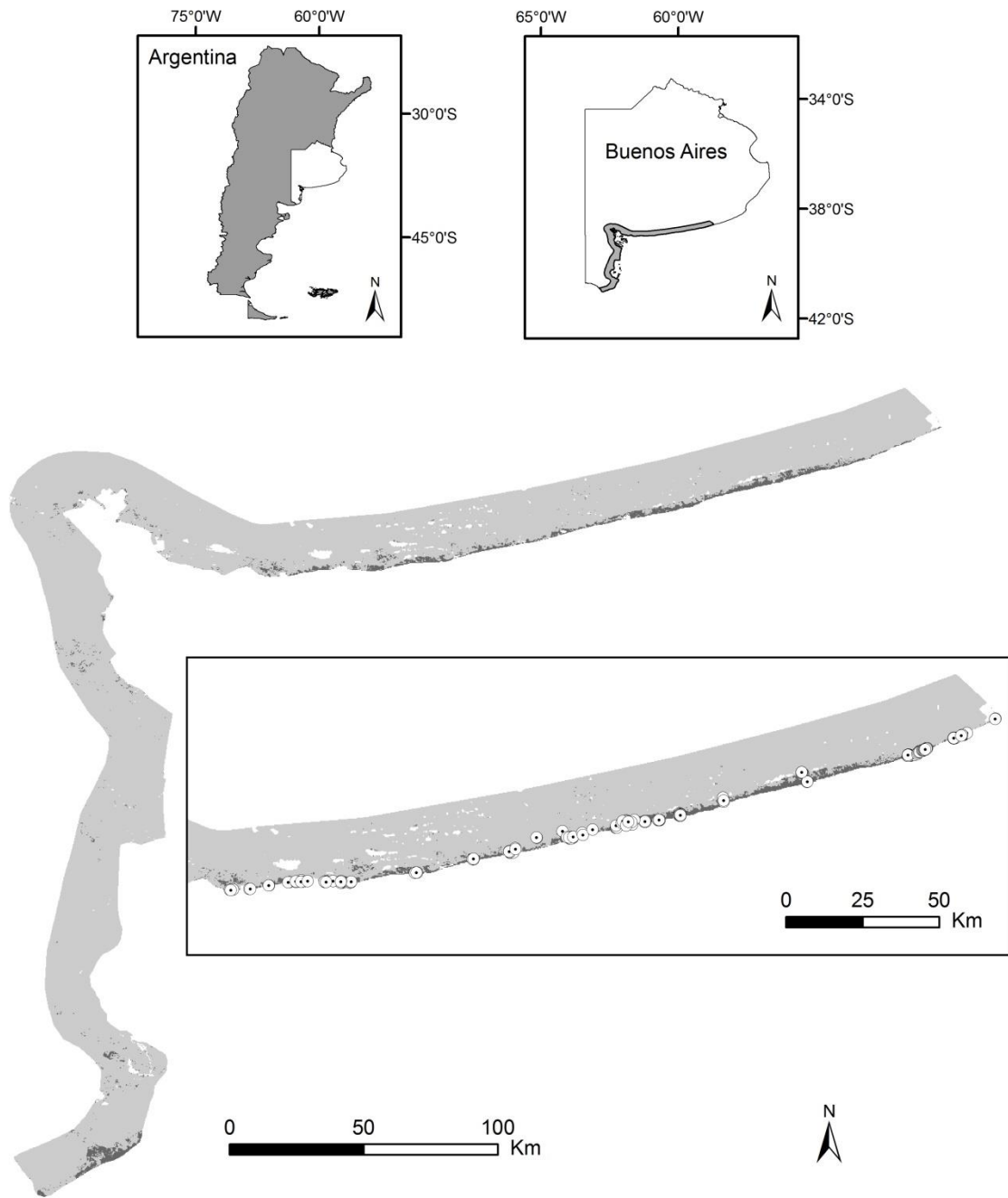


Figura 9. Mapa del hábitat adecuado (predicción binaria) para *C. australis*. El área gris claro muestra el alcance de la calibración del modelo, y el área gris oscuro muestra la

distribución potencial de la especie. Los círculos blancos representan los registros de ocurrencia de *C. australis*.



Figura 10. Mapa del hábitat adecuado (predicción binaria) para *C. talarum*. El área gris claro muestra el alcance de la calibración del modelo, y el área gris oscuro muestra la

distribución potencial de la especie. Los círculos negros representan los registros de ocurrencia de *C. talarum*.

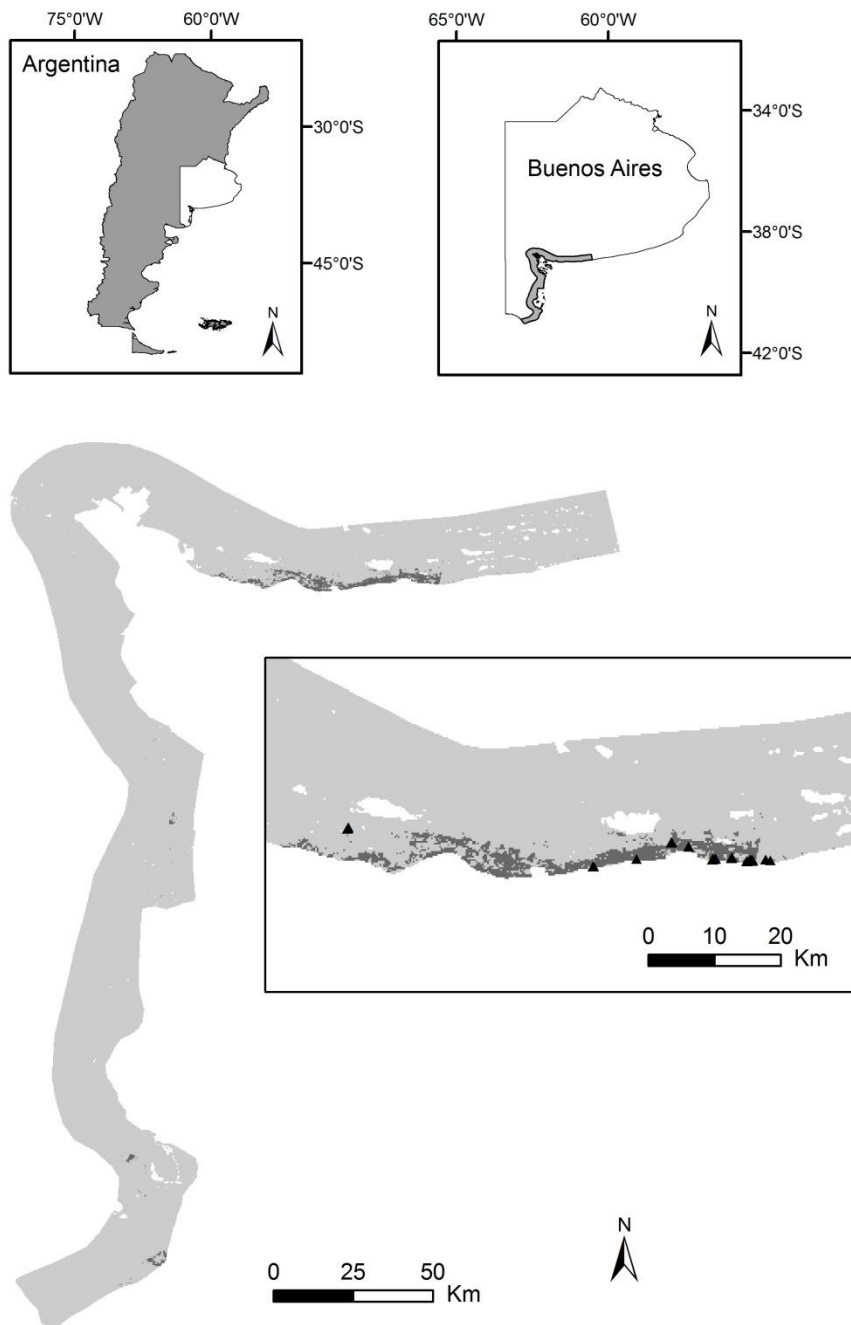


Figura 11. Mapa del hábitat adecuado (predicción binaria) para *Ctenomys* sp. El área gris claro muestra el alcance de la calibración del modelo, y el área gris oscuro muestra la

distribución potencial de la especie. Los triángulos negros representan los registros de ocurrencia de *Ctenomys* sp.

Solapamiento de Nicho

Teniendo en cuenta que el mejor ajuste de los modelos de distribución para las especies en estudio se obtuvieron a partir de las imágenes satelitales Landsat y las capas granulométricas, las estimaciones de superposición de nichos ambientales se basaron en aquellos modelos que solo consideraron este conjunto de variables. Las áreas geográficas superpuestas por *C. australis* - *Ctenomys* sp. y *C. talarum* - *Ctenomys* sp. fueron muy similares, 41 y 41,32 km², respectivamente. Para *C. australis* - *C. talarum*, el área superpuesta fue de 215,17 km² (Fig. 12).

Las variables que presentaron en común las distintas especies, y que se tuvieron en cuenta para llevar a cabo el enfoque de ACP, fueron: para *C. australis* y *Ctenomys* sp., Contenido de arena, Contenido de arcilla, Contenido de limo, Contenido de carbono orgánico, Bandas Landsat 5, 9 y 10; para *C. australis* y *C. talarum*, las cuatro variables granulométricas, bandas Landsat 4, 5, 9 y 10; y para *C. talarum* y *Ctenomys* sp., las mismas cuatro variables granulométricas, bandas Landsat 5, 9 y 10. Los dos primeros ejes del ACP utilizados para caracterizar el ambiente disponible para los pares de especies fueron: 34 y 18% de la varianza total para *C. australis* y *Ctenomys* sp., 30 y 20% para *C. australis* y *C. talarum*, y finalmente, 33 y 23% para *C. talarum* y *Ctenomys* sp. La superposición de nichos ambientales entre pares de especies reveló que el valor de D más alto fue para *C. australis* - *Ctenomys* sp. ($D = 0,36$), mientras que el valor de D más bajo fue para *Ctenomys* sp. - *C. talarum* ($D = 0,01$); el par *C. talarum* - *C. australis* reveló un valor D intermedio de 0,10. La prueba de equivalencia de nicho mostró que solo *C. australis* - *Ctenomys* sp. tienen nichos ecológicamente idénticos ($P = 0,12$). Para el resto de las comparaciones pareadas, los valores de D mostraron diferencias estadísticamente significativas.

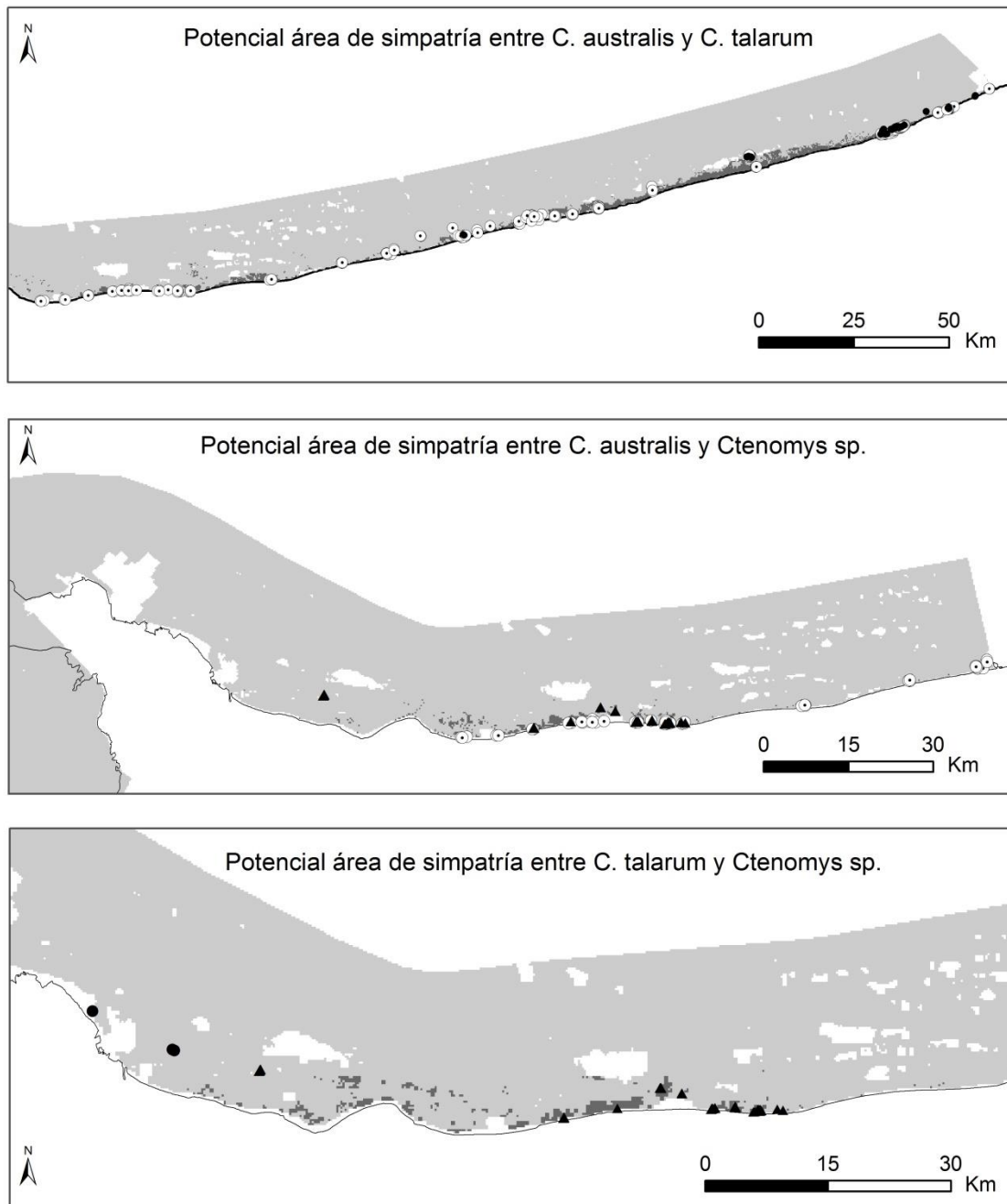


Figura 12. Potenciales áreas de simpatría para los diferentes pares de especies. El área gris oscuro muestra el área potencial de solapamiento entre dos especies; se muestran los registros de ocurrencia de *C. australis* (círculos blancos), *C. talarum* (círculos negros) y *Ctenomys* sp. (triángulos negros).

Discusión

Influencia de las variables en la predicción del modelo

A pesar de los beneficios que ofrecen muchas variables bioclimáticas utilizadas como predictores de nichos ecológicos, sus resoluciones suelen ser demasiado bajas para detectar patrones a escalas terrestres finas (Shirley et al. 2013). En comparación con las variables bioclimáticas, en este estudio se encontró que la inclusión de bandas Landsat y variables granulométricas como predictores en los MDEs, mejoró sustancialmente la precisión de los mismos. Usando este conjunto de variables, se pudo capturar características significativas de los hábitats que permitieron definir con bastante precisión las distribuciones potenciales de las especies en estudio. Este resultado podría ser interpretado por 1) una adecuada selección de variables como las capas granulométricas y bandas Landsat, que permitió una mejor interpretación de los modelos potenciales para las especies de tuco-tucos en comparación con las variables bioclimáticas, y 2) la resolución seleccionada para estas variables (250-500 m), lo que permitió un mejor ajuste de los modelos con respecto a las distribuciones restringidas y aisladas para estas especies con muy baja capacidad de dispersión (ver Austin y Van Niel 2011). Si bien la métrica utilizada para evaluar el desempeño de los modelos (AUC) no mostró diferencias entre ambos tipos de modelos (variables bioclimáticas versus bandas Landsat y capas granulométricas), la inspección visual de los mismos basado en el conocimiento previo de las distribuciones de estas especies, mostró lo contrario.

Aunque existen varios estudios realizados sobre modelos de distribución potencial en roedores y otros pequeños mamíferos (Anderson y Raza 2010; Martínez-Gordillo et al. 2010; Gutiérrez et al. 2014; Hoffman 2015), no existen muchos estudios en roedores subterráneos como los tuco-tucos (Gómez Fernández et al. 2016; Kubiak et al. 2017; Lazo-Cancino et al. 2019). En cuanto a la interpretación de los resultados de este estudio, respecto a la adecuada selección de las variables, se encuentra concordancia con el trabajo de Gómez Fernández et al. (2016), quienes realizaron un estudio en especies de *Ctenomys* de la provincia de Corrientes, Argentina. Aquí, los autores informaron que las variables que más contribuyeron al MDE fueron aquellas relacionadas con las características del suelo, especialmente las variables que se refieren a los tipos de suelos arenosos y limosos, que permitieron predecir positivamente la probabilidad de presencia en el modelo. Otro estudio realizado en especies de tuco-tucos del sur de Brasil, reportó resultados insatisfactorios en relación a los MDEs. *C. flamarioni* y *C. minutus*, que se encuentran en estrecha proximidad geográfica, no difirieron en sus nichos climáticos; esto

se debió, probablemente, a que las variables de temperatura y precipitación (de WorldClim) empleadas en los MDEs, no afectaron de manera diferencial sus distribuciones geográficas (Kubiak et al. 2017). Al igual que en nuestras especies focales, en estas especies brasileñas de roedores subterráneos, las características del microhábitat explican mejor los patrones geográficos observados; es decir, las condiciones climáticas probablemente no resultaron informativas debido a los tamaños restringidos de las áreas donde se encuentran que, como en el caso de *C. australis* y *Ctenomys* sp., presentan poca variación climática significativa.

En cuanto a la resolución espacial de las variables, Connor et al. (2019) reportaron resultados similares a los obtenidos en este estudio para el panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), una especie de hábitat específico. Estos autores observaron que los modelos construidos en una cierta extensión, se vieron afectados negativamente por el aumento de tamaño de grano (baja resolución), ya que hubo una pérdida de puntos de ocurrencia como de puntos de *background* (esto debido al aumento de tamaño de celdas bajo la misma extensión). Esta tendencia se hizo más notoria a medida que la resolución espacial era más baja. Básicamente, como la resolución es menor, existe una superposición entre la presencia y las condiciones ambientales de *background*, lo que da como resultado una débil señal entre hábitat adecuado e inadecuado (Merow et al. 2013; Connor et al. 2019). Otro caso interesante es el del topo ibérico, *Talpa occidentalis*, otro mamífero subterráneo endémico. Los modelos obtenidos para esta especie mostraron una mejor performance con variables a alta resolución espacial, que a baja resolución espacial (Suárez-Seoane et al. 2014). Debido a que en este estudio los autores utilizaron diferentes cantidades de registros de ocurrencias según la resolución espacial de las variables utilizadas (menos ocurrencias para los modelos obtenidos con variables de baja resolución), concluyeron que, al menos en parte, una de las razones por las cuales los MDEs entrenados a una baja resolución tuvieron un peor rendimiento, podría deberse a un tamaño reducido de muestra de presencias (Suárez-Seoane et al. 2014). En el presente estudio, *C. australis* y *Ctenomys* sp., dos especies especializadas de hábitat, pero además con un rango geográfico muy estrecho, mostraron una mayor probabilidad de presencia en sitios de *background* cuando se modelaron con variables de baja resolución (bioclimáticas). En el caso de *C. australis*, el número de ocurrencias utilizado para modelar con variables bioclimáticas fue menor, debido al mayor tamaño de grano. Como en el caso del panda gigante y el topo ibérico, dos especies especializadas de hábitat, el modelo de *C. australis* mostró un pobre desempeño a baja resolución, debido

principalmente a las estrictas condiciones de su hábitat que delimitan su distribución. Por otro lado, *Ctenomys magellanicus*, la especie patagónica más austral de Argentina y Chile, ha mostrado un buen desempeño de su modelo basado en variables bioclimáticas, obteniéndose un MDE muy realista en relación con la distribución conocida de la misma (Lazo-Cancino et al. 2019). A pesar de haber utilizado variables de baja resolución, como las bioclimáticas, esta especie tiene una distribución bidimensional, abarcando áreas costeras y continentales, así como diferentes tipos de hábitats como estepa patagónica, pastizales y áreas de matorral (Patton et al. 2015; Lazo-Cancino et al. 2019). Por lo tanto, este ejemplo muestra que las variables bioclimáticas, a diferencia de las especies de nuestro estudio, son las que gobiernan la distribución potencial de *C. magellanicus* en estos ambientes, mostrando una mayor relevancia en la región patagónica.

Se ha reportado que los requisitos de hábitat específicos de la mayoría de los roedores subterráneos son suelos bien drenados y aireados (Buffenstein 2000). En tal contexto, el costo de excavación es uno de los principales factores relacionados con el tipo de suelo, lo que se refleja en las limitaciones físicas y energéticas; los diferentes tipos de suelo pueden variar en dureza, porosidad, capacidad de disipación de calor y productividad primaria (Luna y Antinuchi 2006, 2007). Suelos más porosos ofrecen una mayor difusión de oxígeno y dióxido de carbono entre el interior y el exterior del mismo (Shams et al. 2005; Gómez Fernández et al. 2016). Considerando la importancia de las características del suelo en relación a la ocupación del medio subterráneo por parte de los tuco-tucos, no es de extrañar que las variables granulométricas resultaran ser las más relevantes para los modelos en este estudio, especialmente las relacionadas con el contenido de arena, limo y arcilla. Cabe señalar que el contenido de arena fue una variable que mostró un gran aporte a los modelos de las tres especies de tuco-tucos, según los resultados de la prueba “Jackknife”. De acuerdo con los requerimientos de estos roedores subterráneos, los suelos arenosos como los presentes en la región costera, se caracterizan por ser altamente permeables y con poca materia orgánica. De esta forma, los sustratos arenosos son el componente fundamental para la ocupación y permanencia de estas especies, especialmente en *C. australis*, que parece ser la especie más restrictiva en cuanto a requerimientos de hábitat.

El otro conjunto de variables que mostró una buena contribución a los modelos fueron las bandas Landsat. Para las tres especies de tuco-tucos, las bandas Landsat que más contribuyeron fueron las bandas 4, 5 y 10. Las primeras dos bandas presentan valores espectrales asociados con características de la vegetación, como la biomasa de

las hojas verdes, el área foliar y la actividad fotosintética (Spanner et al. 1990); la banda Landsat 4 (roja) discrimina las pendientes y las condiciones de la vegetación y la banda Landsat 5 (banda del infrarrojo cercano, NIR) resalta el contenido de biomasa. De este modo, existe una fuerte relación entre la ocurrencia de diferentes especies de tuco-tucos y el grado de cobertura vegetal (Malizia et al. 1991; Comparatore et al. 1992; Mapelli et al. 2012; Kubiak et al. 2015). Además, la banda Landsat 10 (TIRS 1) tuvo una alta contribución al modelo en una de las especies de tuco-tucos (*Ctenomys* sp.); esta banda representa la temperatura superficial y estima la humedad del suelo, características muy relacionadas con el tipo de suelo. Por tanto, el tipo de vegetación, junto con el tipo de suelo, constituyen las principales características que definen el patrón de segregación del hábitat en las tres especies de *Ctenomys* estudiadas.

Distribución de hábitat adecuado y solapamiento de nichos

Los principales resultados de este estudio mostraron distribuciones potenciales muy restringidas para las tres especies de roedores subterráneos. Las variables Contenido de arena, Contenido de arcilla y Contenido de limo mostraron una alta contribución a los modelos, así como las bandas Landsat 4, 5 y 10. Todas estas variables revelaron algunas diferencias entre especies. El Contenido de arena y la banda Landsat 4 fueron dos de las variables más importantes para *C. australis*; esto se corresponde con el tipo de suelo donde se encuentra esta especie, siendo principalmente arenosos de grano grueso y con poca o nula cobertura vegetal (Vassallo 1998; Busch et al. 2000). Por otro lado, se observaron algunas similitudes entre *C. talarum* y *Ctenomys* sp. en relación al tipo de variables granulométricas que ofrecieron un buen aporte al modelo. Para *C. talarum* y *Ctenomys* sp., el Contenido de limo y arcilla presentaron una contribución a los modelos tan alta como el Contenido de arena. Estas características se reflejan en las distribuciones de las especies; *C. talarum* y *Ctenomys* sp. están presentes principalmente en la segunda franja de dunas, donde la vegetación es más abundante y el suelo es de grano más fino.

A pesar de algunas diferencias encontradas en relación a la contribución de las diferentes variables a los modelos de las distintas especies, también se observaron algunas similitudes. El Contenido de arena, variable que presentó una alta contribución en todos los modelos, presentó altos valores de probabilidad para todas las especies en estudio ($\geq 55\%$). Un estudio realizado en dos especies de roedores subterráneos parapátricos, conocidos como tuzas (Familia Geomyidae), informó resultados similares al

utilizarse variables granulométricas (Hoffman 2015). Este autor encontró que la variable relacionada con el contenido de arena fue la más importante para explicar la distribución potencial de *Geomys bursarius* y *Cratogeomys castanops*, mostrando valores de probabilidad de ocurrencia superiores al 38% y 21%, respectivamente. Además, se encontró una diferencia en la preferencia del suelo en estas dos especies de tuzas; *G. bursarius* prefiere suelos principalmente arenosos, mientras que *C. castanops* habita una gama más amplia de texturas de suelo (Hoffman y Choate 2008; Hoffman 2015).

Los comportamientos de las curvas de respuesta de las variables permitieron comprender mejor ciertas características de las condiciones de los hábitats de los tuco-tucos. Para *C. australis*, la curva de respuesta de Contenido de arena muestra que la probabilidad de presencia de la especie es mayor en suelos con altos porcentajes de arena (valores entre el 50 y 67 % de arena). Esto se corresponde con lo mencionado anteriormente respecto al tipo de suelo que frecuenta esta especie, caracterizado por una abundancia de arena que hace que este ambiente este conformado principalmente por partículas de grano grueso (Vassallo 1998; Busch et al. 2000). Por otro lado, las curvas de respuesta de Contenido de arcilla y de limo muestran que la probabilidad de ocurrencia de la especie disminuye en suelos con altos porcentajes de estas partículas (valores superando el 20% y el 16% para Contenido de arcilla y de limo, respectivamente). Esto tiene sentido, dado que *C. australis* es una especie que exhibe un comportamiento “raspador”, es decir, utiliza sus uñas para excavar (usando sus incisivos solo para cortar raíces), adaptada a habitar suelos blandos (Vassallo 1998; Mora et al. 2003). Además, como se mencionó anteriormente, *C. australis*, la especie más grande de este estudio, excava sus sistemas de túneles a una profundidad máxima de ~ 120 cm (Luna y Antinuchi 2007). En suelos más duros, típicos del ambiente donde vive *C. talarum*, encontramos una capa de piedra caliza a aproximadamente 35 cm de profundidad (Malizia et al. 1991; Luna y Antinuchi 2007). Esto explicaría la disminución en la probabilidad de ocurrencia de *C. australis* en suelos con mayor contenido de limo y arcilla (partículas que comúnmente se encuentran en mayor proporción en suelos compactos y duros). La curva de respuesta de la banda Landsat 4, otra de las variables con mayor aporte al modelo de *C. australis*, mostró una alta probabilidad de ocurrencia en suelos con escasa vegetación, indicado por el rango acotado de valores que muestra esta banda cuando la probabilidad de ocurrencia es mayor. Este resultado también es consistente con el tipo de hábitat en el que se encuentra la especie, caracterizado por una escasa cobertura vegetal (Vassallo 1998; Busch et al. 2000). Sin embargo, la banda Landsat 5 no apoyó este resultado, indicando

una alta probabilidad de ocurrencia de la especie en suelos con altos contenidos de biomasa vegetal.

Ctenomys talarum mostró una alta probabilidad de ocurrencia en suelos con altos contenidos de arena (con valores superiores al 59 % de arena), y mayor cobertura vegetal (indicado por los altos valores de la banda Landsat 4). En general, ésta especie mostró una alta probabilidad de presencia en suelos con mayor contenido de limo en comparación a *C. australis* (valores entre 17 y 25 %), revelando que los sustratos más compactos y duros son propicios para la ocupación de *C. talarum*. Sin embargo, cuando el Contenido de limo del suelo supera cierto umbral, esta probabilidad comienza a disminuir. Esta especie de pequeño tamaño excava sus sistemas de túneles a una profundidad máxima de ~ 30 cm, exhibiendo un comportamiento de “raspador” así como también de excavador usando los dientes, tanto en suelos friables como duros (Vassallo 1998; Luna y Antinuchi 2007). *Ctenomys talarum* presenta los extensores del brazo relativamente más grandes en comparación con *C. australis*, representando un rasgo adaptativo con respecto a la alta capacidad de excavación en suelos más duros (Vassallo 1998).

Finalmente, *Ctenomys* sp., al igual que las otras especies de estudio, tiene una alta probabilidad de presencia en suelos muy arenosos, y con un poco más de contenido de arcilla (alrededor del 23%) en comparación a *C. australis*; pequeñas variaciones en este porcentaje pueden resultar en una disminución en su probabilidad de ocurrencia. También se evidenció una alta probabilidad de ocurrencia de *Ctenomys* sp. en suelos con alta humedad y temperatura superficial, reflejado por la banda Landsat 10. Esto último tiene sentido, ya que el suelo ocupado por esta especie presenta una alta cobertura vegetal, encontrándose en zonas de dunas semifijas y fijas, incluso bajos interdunales (Austrich, comunicación personal), donde la humedad del suelo es mayor. La información sobre esta especie es escasa; como se mencionó previamente, *Ctenomys* sp. ha sido sugerida recientemente como una nueva especie, genéticamente diferenciada de *C. talarum* (Tomasco y Mora 2015; Austrich et al. 2017; ver Capítulo II). *Ctenomys* sp. habita suelos con características intermedias a las de *C. australis* y *C. talarum*; es decir, suelos ligeramente friables, aunque no tanto como los habitados por *C. australis* (debido principalmente a un mayor contenido de arcilla), pero con abundante cobertura vegetal como los suelos habitados por *C. talarum* (Austrich, comunicación personal). El comportamiento de excavación y la morfología funcional de *Ctenomys* sp. se desconoce. Se han realizado estudios detallados sobre el comportamiento de excavación en *C. australis* y *C. talarum*, caracterizando también aspectos de la morfología funcional de sus

extremidades y algunos elementos involucrados en la excavación (Vassallo 1998; Mora et al. 2003). Pero respecto a *Ctenomys* sp. solo se sabe que el tamaño de su cuerpo es ligeramente mayor al de *C. talarum*, y que la profundidad máxima de las madrigueras de los sistemas de túneles es de ~ 60 cm (Austrich, comunicación personal).

La información proporcionada por el análisis de solapamiento de nicho, permitió comprender mejor las diferencias y similitudes entre los hábitats de estas especies. Todas las especies, analizadas de a pares, mostraron cierto grado de superposición geográfica, es decir, hay áreas que denotan potencial simpatria entre dos especies, aunque una de ellas no este necesariamente presente. En el caso de *C. australis* - *C. talarum*, que presentaron el área de mayor superposición (215,17 km²), se pudo observar que el sector ubicado al suroeste de la costa de Buenos Aires, si bien se muestra superposición geográfica, se sabe que solo *C. australis* está presente allí. Si bien este resultado estaría indicando una sobreestimación del solapamiento entre estas dos especies, no debe perderse de vista el significado del mismo. El hecho de que en este sector en particular exista hábitat adecuado para la presencia de *C. talarum* (al menos en base a las variables analizadas), no significa que la especie tenga que estar presente en el sitio, sino que las condiciones ambientales son propicias para su presencia. Incluso, a partir de resultados como éste surgen otras preguntas: ¿por qué *C. talarum* no esta presente en este sector de la barrera de dunas si las condiciones ambientales son las adecuadas?, o en otras palabras, si hay presencia de poblaciones de *C. talarum* tanto al este de la BMA, como al oeste, ¿por qué no se distribuyen también en el sector comprendido entre éstos dos extremos?. Una posible respuesta podría estar dada por la existencia de competencia interespecifica entre las especies que habitan esta barrera de dunas. A partir de análisis relacionados al desplazamiento de caracteres morfológicos, por ejemplo, se podría constatar si dicha interacción esta presente.

En el presente estudio, *C. australis* - *Ctenomys* sp. mostraron el mayor valor de solapamiento ambiental (D de Schoener = 0,36), tratándose de dos especies que comparten una gran similitud respecto las características ambientales de sus hábitats. Además, los resultados obtenidos de la prueba de equivalencia mostraron que estas dos especies tienen nichos ecológicamente similares. Si se tiene en cuenta que ambas especies comparten ciertas preferencias por suelos muy arenosos, y en general con bajos contenidos de arcilla, podría asumirse que las características granulométricas del suelo parecen explicar mayormente la equivalencia ambiental entre estas dos especies. Respecto a la cobertura vegetal, como ya se mencionó anteriormente, sus hábitats en

relación a esta característica son muy diferentes, por lo que es poco probable que la equivalencia ambiental se deba a la misma. Además, la prueba de “jackknife” reveló que el Contenido de arcilla y arena fueron las variables más relevantes para ambos modelos. No es la primera vez que diferentes especies relacionadas de vertebrados revelan diferentes patrones de selección de hábitat en áreas de simpatría. Un caso muy similar al de los tuco-tucos, y que también están presentes en las barreras de dunas bonaerenses, es el de dos especies de lagartijas, *Liolaemus multimaculatus* y *Liolaemus wiegmanni*; si bien estas dos especies coexisten en simpatría, cada una selecciona un microhábitat diferente (Block 2014). *L. multimaculatus* selecciona microhábitats con un alto porcentaje de suelo desnudo y baja cobertura vegetal, encontrándose principalmente en las dunas vivas. Mientras que *L. wiegmanni* selecciona microhábitats con mayor cobertura vegetal, siendo más a fin a las dunas semifijas (Block 2014). Se ha propuesto que esta segregación espacial a nivel de microhábitat se corresponde con una partición de los recursos, lo que reduciría la competencia interespecífica (Vega 1999). En los lémures ratones *Microcebus murinus* y *Microcebus griseorufus*, aunque en alopatría, tienen amplias similitudes ambientales y ocupan diferentes microhábitats cuando se encuentran en simpatría (Rakotondranary y Ganzhorn 2011). Otros estudios realizados en víboras europeas revelaron la importancia de las variables ambientales en zonas de contacto y áreas de simpatría entre diferentes especies, mostrando diferentes patrones de selección de hábitat. La distribución de las víboras en la zona de contacto y las áreas de simpatría resultó, aparentemente, del equilibrio entre las presiones ejercidas por diferentes variables ambientales y por la competencia interespecífica (Martínez-Freiría et al. 2008).

Para el resto de las comparaciones de pares de especies, *C. talarum* - *Ctenomys* sp. y *C. talarum* - *C. australis*, se rechazó la hipótesis nula de equivalencia de nicho, indicando que existe una divergencia en sus nichos debido, principalmente, a sus preferencias de hábitat y a sus adaptaciones, permitiéndoles aprovechar de manera más eficiente los recursos.

Anexos

Anexo 1. Resultados de los experimentos de ajuste del modelo (con las variables bioclimáticas) usando ENMeval para *Ctenomys australis*. Matriz de los criterios de evaluación ordenados según AICc, el criterio óptimo utilizado para el ajuste del modelo. Sobresale en negrita la combinación de FC y MR con el AICc más bajo. Lineal (L), Cuadrático (Q), Hinge (H).

Feature Class	Multiplicador de Regularización	Media Test AUC	Prueba de varianza AUC	Media AUC DIFF	Varianza AUC DIFF	AICc	Delta AICc	W AIC	Parámetros
H	0.5	0.954503	0.00000245	0.007053	0.0000497	1056.416	20.414753	0.000029777	18
LH	0.5	0.954419	0.00000404	0.007588	0.0000576	1036.001	0	0.807039634	13
QH	0.5	0.954322	0.00000727	0.007689	0.0000591	1039.135	3.1340966	0.168397030	14
LQH	0.5	0.954642	0.00000639	0.007495	0.0000562	1042.988	6.9866751	0.024533394	15
LQ	0.5	0.882115	0.00002728	0.004538	0.0000206	1154.192	118.19067	0.000000000	6
H	1	0.948453	0.00004572	0.008088	0.0000654	1078.996	42.995403	0.000000000	13
LH	1	0.949459	0.00005789	0.009335	0.0000871	1069.941	33.940052	0.000000034	12
QH	1	0.948967	0.00006652	0.009978	0.0000996	1070.575	34.574437	0.000000025	12
LQH	1	0.948945	0.00006634	0.00999	0.0000998	1073.651	37.650414	0.000000005	13
LQ	1	0.868671	0.00003298	0.004804	0.0000231	1188.187	152.18663	0.000000000	5
H	1.5	0.945262	0.00005767	0.007729	0.0000597	1082.591	46.589953	0.000000000	9
LH	1.5	0.945697	0.00009585	0.009976	0.0000995	1070.945	34.944291	0.000000021	9
QH	1.5	0.945606	0.00009185	0.009495	0.0000902	1074.793	38.79169	0.000000003	10
LQH	1.5	0.945438	0.00009032	0.009592	0.0000920	1068.601	32.600561	0.000000067	8
LQ	1.5	0.867208	0.00001749	0.004277	0.0000183	1199.168	163.16712	0.000000000	5
H	2	0.941937	0.00010775	0.009555	0.0000913	1087.493	51.491698	0.000000000	7
LH	2	0.944388	0.00005422	0.008981	0.0000807	1077.081	41.080348	0.000000001	8
QH	2	0.943601	0.00004720	0.009111	0.0000830	1076.747	40.746295	0.000000001	8
LQH	2	0.943438	0.00004533	0.009004	0.0000811	1073.576	37.574764	0.000000006	7
LQ	2	0.865287	0.00000391	0.004268	0.0000165	1209.903	173.90169	0.000000000	5
H	2.5	0.941609	0.00013506	0.011438	0.0001308	1100.978	64.976994	0.000000000	8

LH	2.5	0.941335	0.00003463	0.009138	0.0000835	1081.167	45.165904	0.000000000	7
QH	2.5	0.939451	0.00001405	0.009095	0.0000827	1081.487	45.485846	0.000000000	7
LQH	2.5	0.939574	0.00001264	0.008831	0.0000780	1080.638	44.636972	0.000000000	7
LQ	2.5	0.864318	0.00000365	0.003731	0.0000127	1208.572	172.57145	0.000000000	4
H	3	0.933003	0.00003319	0.00894	0.0000799	1112.898	76.897343	0.000000000	8
LH	3	0.931434	0.00000061	0.007743	0.0000600	1089.52	53.51866	0.000000000	7
QH	3	0.927034	0.00000087	0.006901	0.0000476	1089.993	53.992053	0.000000000	7
LQH	3	0.926844	0.00000097	0.007069	0.0000500	1091.995	55.993802	0.000000000	8
LQ	3	0.862876	0.00000011	0.003679	0.0000013	1209.059	173.05821	0.000000000	4
H	3.5	0.916696	0.00007615	0.009075	0.0000824	1126.167	90.16581	0.000000000	8
LH	3.5	0.917411	0.00000269	0.004719	0.0000223	1098.554	62.553611	0.000000000	7
QH	3.5	0.914914	0.00001742	0.002737	0.0000075	1096.264	60.263481	0.000000000	6
LQH	3.5	0.914997	0.00001673	0.00272	0.0000074	1095.539	59.537856	0.000000000	6
LQ	3.5	0.862931	0.00000191	0.003063	0.0000007	1209.626	173.62541	0.000000000	4
H	4	0.906006	0.00033586	0.006146	0.0000378	1137.302	101.30069	0.000000000	7
LH	4	0.910455	0.00002005	0.002082	0.0000043	1104.134	68.133535	0.000000000	6
QH	4	0.908705	0.00004007	0.003	0.0000090	1104.656	68.65513	0.000000000	6
LQH	4	0.908685	0.00003947	0.003015	0.0000091	1103.805	67.804192	0.000000000	6
LQ	4	0.859809	0.00000449	0.003004	0.0000029	1210.277	174.27599	0.000000000	4
H	4.5	0.893825	0.00003777	0.006146	0.0000378	1152.708	116.7069	0.000000000	7
LH	4.5	0.902207	0.00007356	0.003606	0.0000130	1112.872	76.871171	0.000000000	6
QH	4.5	0.901095	0.00009721	0.003006	0.0000090	1113.599	77.598033	0.000000000	6
LQH	4.5	0.90129	0.00009341	0.003212	0.0000103	1112.841	76.839713	0.000000000	6
LQ	4.5	0.859923	0.00000499	0.002355	0.0000055	1211.032	175.03155	0.000000000	4
H	5	0.893825	0.00003777	0.006146	0.0000378	1164.82	128.81928	0.000000000	6
LH	5	0.890954	0.00014941	0.003069	0.0000094	1122.291	86.289942	0.000000000	6
QH	5	0.890762	0.00016966	0.003005	0.0000090	1123.354	87.353599	0.000000000	6
LQH	5	0.890267	0.00015259	0.003067	0.0000094	1122.619	86.618153	0.000000000	6
LQ	5	0.857378	0.00000010	0.002355	0.0000055	1211.85	175.84946	0.000000000	4

Anexo 2. Resultados de los experimentos de ajuste del modelo (con las variables bioclimáticas) usando ENMeval para *Ctenomys talarum*. Matriz de los criterios de evaluación ordenados según AICc, el criterio óptimo utilizado para el ajuste del modelo. Sobresale en negrita la combinación de FC y MR con el AICc más bajo. Lineal (L), Cuadrático (Q), Hinge (H).

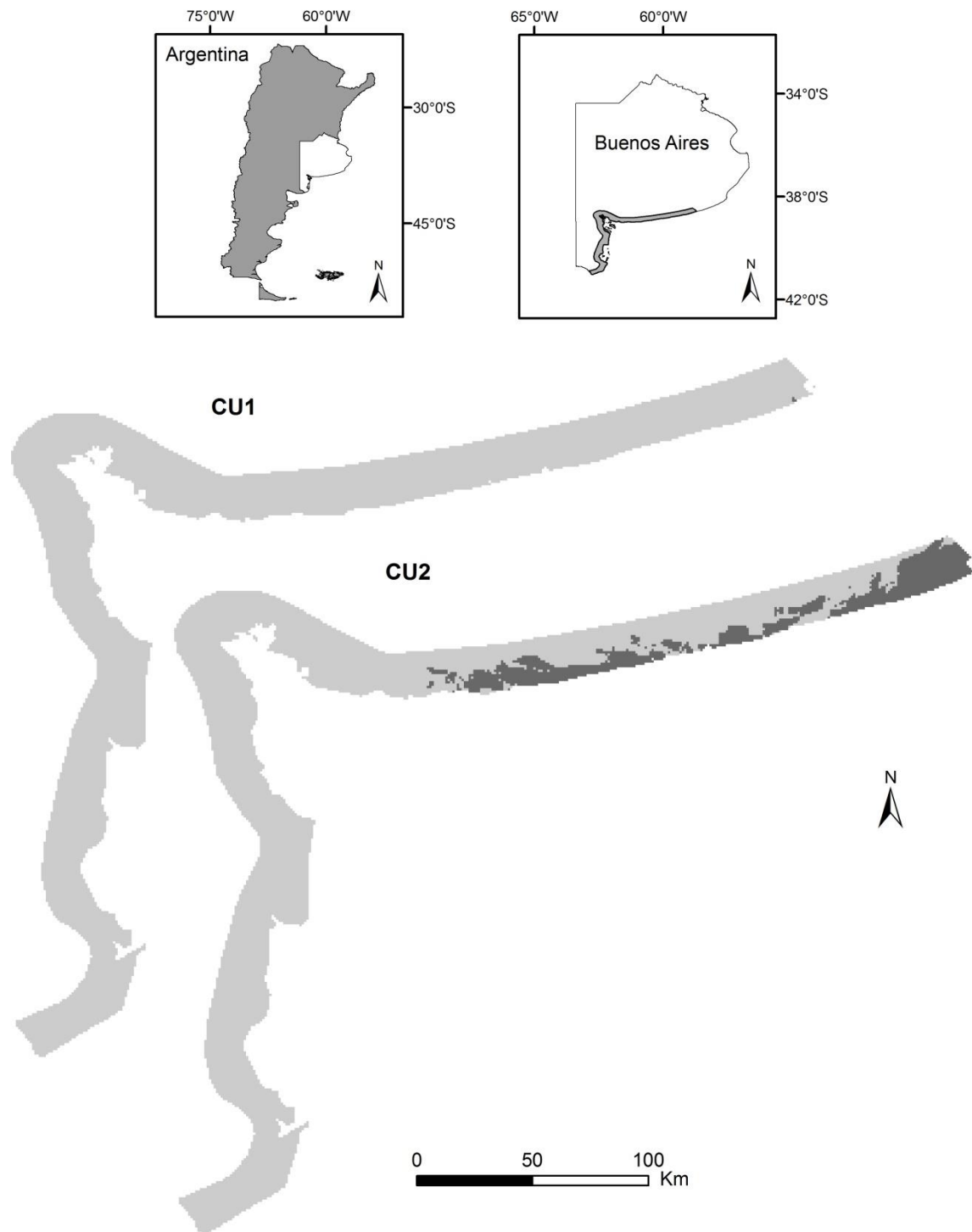
Feature Class	Multiplicador de Regularización	Media Test AUC	Prueba de varianza AUC	Media AUC DIFF	Varianza AUC DIFF	AICc	Delta AICc	W AIC	Parámetros
H	0.5	0.906056	0.0000112	0.043122	0.0000084	1532.784	30.352638	0.000000	29
LH	0.5	0.904749	0.0000083	0.043982	0.0000095	1555.502	53.071187	0.000000	32
QH	0.5	0.904606	0.0000080	0.044171	0.0000105	1564.571	62.139337	0.000000	33
LQH	0.5	0.904616	0.0000056	0.044202	0.0000129	1595.658	93.226255	0.000000	36
LQ	0.5	0.882257	0.0012481	0.025309	0.0006406	1548.364	45.932926	0.000000	6
H	1	0.90287	0.0001989	0.035632	0.0000164	1505.949	3.518117	0.130805	17
LH	1	0.90175	0.0001916	0.035976	0.0000199	1502.431	0	0.759583	16
QH	1	0.90198	0.0001599	0.036011	0.0000149	1510.648	8.217203	0.012481	18
LQH	1	0.902041	0.0001632	0.036023	0.0000153	1514.167	11.735321	0.002149	19
LQ	1	0.860022	0.0034487	0.035036	0.0012275	1556.44	54.008743	0.000000	6
H	1.5	0.901167	0.0003998	0.032302	0.0001344	1515.278	12.846959	0.001233	14
LH	1.5	0.898774	0.0003907	0.032303	0.0001725	1508.647	6.216150	0.033943	12
QH	1.5	0.900454	0.0004231	0.028494	0.0001849	1512.052	9.620597	0.006187	13
LQH	1.5	0.900412	0.0004237	0.029591	0.0001575	1507.808	5.376537	0.051651	12
LQ	1.5	0.850811	0.0043735	0.03776	0.0014258	1563.478	61.046417	0.000000	6
H	2	0.900904	0.0006409	0.022747	0.0004438	1523.156	20.724631	0.000024	10
LH	2	0.898232	0.0005956	0.02787	0.0002974	1514.454	12.022340	0.001862	9
QH	2	0.899693	0.0006762	0.023657	0.0004248	1524.912	22.480851	0.000010	11
LQH	2	0.900173	0.0007012	0.024498	0.0003908	1529.818	27.387040	0.000001	13
LQ	2	0.8467	0.0047608	0.040038	0.0016030	1570.686	68.255035	0.000000	6
H	2.5	0.896878	0.0007066	0.02404	0.0005779	1529.424	26.993042	0.000001	8
LH	2.5	0.895948	0.0008396	0.025547	0.0006203	1521.169	18.737590	0.000065	8
QH	2.5	0.896705	0.0009817	0.02502	0.0006260	1529.025	26.593668	0.000001	9

LQH	2.5	0.896942	0.0009967	0.024941	0.0006221	1527.846	25.414668	0.000002	9
LQ	2.5	0.844962	0.0048152	0.040535	0.0016430	1577.994	75.562611	0.000000	6
H	3	0.8939	0.0008252	0.026506	0.0007026	1530.789	28.357346	0.000001	6
LH	3	0.892513	0.0010656	0.02857	0.0008162	1529.897	27.465914	0.000001	8
QH	3	0.891695	0.0012911	0.027734	0.0007692	1538.595	36.163479	0.000000	9
LQH	3	0.891817	0.0012833	0.027583	0.0007608	1536.608	34.176426	0.000000	9
LQ	3	0.844941	0.0045160	0.040106	0.0016085	1584.273	81.841705	0.000000	6
H	3.5	0.890915	0.0009381	0.028689	0.0008231	1537.272	34.841089	0.000000	7
LH	3.5	0.88649	0.0012852	0.03163	0.0010005	1539.211	36.779980	0.000000	8
QH	3.5	0.883712	0.0017093	0.031271	0.0009779	1542.712	40.280935	0.000000	8
LQH	3.5	0.883704	0.0017086	0.031271	0.0009779	1542.716	40.284890	0.000000	8
LQ	3.5	0.844427	0.0042155	0.039767	0.0015814	1590.612	88.181178	0.000000	6
H	4	0.887935	0.0010412	0.030396	0.0009239	1536.407	33.975526	0.000000	5
LH	4	0.880995	0.0014792	0.033437	0.0011180	1543.202	40.770321	0.000000	7
QH	4	0.872815	0.0024764	0.035618	0.0012686	1548.481	46.049798	0.000000	8
LQH	4	0.872679	0.0024900	0.035685	0.0012734	1548.159	45.728125	0.000000	8
LQ	4	0.841555	0.0037515	0.039783	0.0015827	1593.621	91.189780	0.000000	5
H	4.5	0.884973	0.0012364	0.032468	0.0010542	1543.147	40.715253	0.000000	6
LH	4.5	0.874495	0.0017992	0.034694	0.0012037	1549.128	46.696645	0.000000	7
QH	4.5	0.864089	0.0032157	0.037969	0.0014417	1548.599	46.167842	0.000000	6
LQH	4.5	0.864069	0.0032166	0.038008	0.0014446	1548.594	46.162331	0.000000	6
LQ	4.5	0.837042	0.0031730	0.040106	0.0016085	1598.255	95.823661	0.000000	5
H	5	0.880223	0.0015314	0.035307	0.0012466	1545.64	43.208942	0.000000	5
LH	5	0.867088	0.0023490	0.035047	0.0012283	1552.189	49.757535	0.000000	6
QH	5	0.855328	0.0041765	0.039367	0.0015498	1553.68	51.248232	0.000000	6
LQH	5	0.855336	0.0041825	0.039374	0.0015503	1553.671	51.239650	0.000000	6
LQ	5	0.834299	0.0028197	0.040272	0.0016218	1602.675	100.243367	0.000000	5

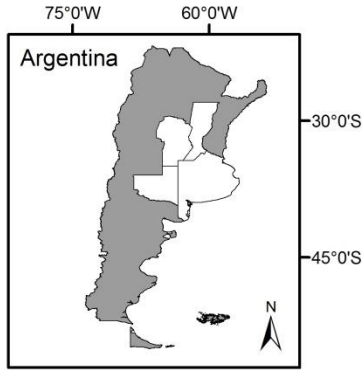
Anexo 3. Resultados de los experimentos de ajuste del modelo (con las variables bioclimáticas) usando ENMeval para *Ctenomys* sp. Matriz de los criterios de evaluación ordenados según AICc, el criterio óptimo utilizado para el ajuste del modelo. Sobresale en negrita la combinación de FC y MR con el AICc más bajo. Lineal (L), Cuadrático (Q), Hinge (H).

Feature Class	Multiplicador de Regularización	Media Test AUC	Prueba de varianza AUC	Media AUC DIFF	Varianza AUC DIFF	AICc	Delta AICc	W AIC	Parámetros
H	0.5	0.968873	0.0000495	0.026791	0.0000282	976.9449	5.000182	0.039761	15
LH	0.5	0.91987	0.0030475	0.07554	0.0028572	972.0986	0.153906	0.448553	14
QH	0.5	0.920274	0.0030701	0.075134	0.0028759	971.9447	0	0.484433	15
LQH	0.5	0.920704	0.0029910	0.074789	0.0028114	977.7003	5.755631	0.027253	16
LQ	0.5	0.954403	0.0007511	0.030735	0.0009446	1161.179	189.233965	0.000000	7
H	1	0.971993	0.0000259	0.022069	0.0000141	1045.252	73.307393	0.000000	12
LH	1	0.924357	0.0027926	0.070377	0.0026133	1027.573	55.628134	0.000000	11
QH	1	0.922855	0.0030087	0.071932	0.0028221	1031.087	59.142216	0.000000	12
LQH	1	0.923047	0.0028630	0.071691	0.0026712	1039.446	67.501216	0.000000	15
LQ	1	0.930556	0.0028122	0.054716	0.0029939	1186.285	214.340285	0.000000	6
H	1.5	0.975419	0.0000238	0.017244	0.0000211	1077.676	105.731629	0.000000	12
LH	1.5	0.927953	0.0026322	0.065705	0.0024645	1055.362	83.417153	0.000000	10
QH	1.5	0.925337	0.0028202	0.068298	0.0026441	1055.555	83.610615	0.000000	10
LQH	1.5	0.931017	0.0022857	0.062601	0.0021260	1060.149	88.203857	0.000000	11
LQ	1.5	0.915281	0.0044038	0.067947	0.0046168	1208.906	236.960932	0.000000	6
H	2	0.977027	0.0000537	0.013574	0.0000768	1105.566	133.621349	0.000000	12
LH	2	0.933586	0.0022764	0.058748	0.0021846	1079.817	107.871932	0.000000	10
QH	2	0.92842	0.0027481	0.063843	0.0026397	1082.963	111.018336	0.000000	11
LQH	2	0.937282	0.0018975	0.055004	0.0018096	1081.268	109.323661	0.000000	10
LQ	2	0.915458	0.0041608	0.066978	0.0044861	1225.182	253.237301	0.000000	5
H	2.5	0.975711	0.0001148	0.012787	0.0001635	1126.095	154.150169	0.000000	11
LH	2.5	0.939985	0.0018639	0.050081	0.0017803	1113.653	141.708433	0.000000	11
QH	2.5	0.936044	0.0021568	0.054195	0.0020474	1115.457	143.512561	0.000000	12

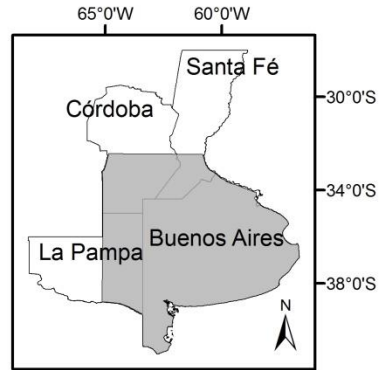
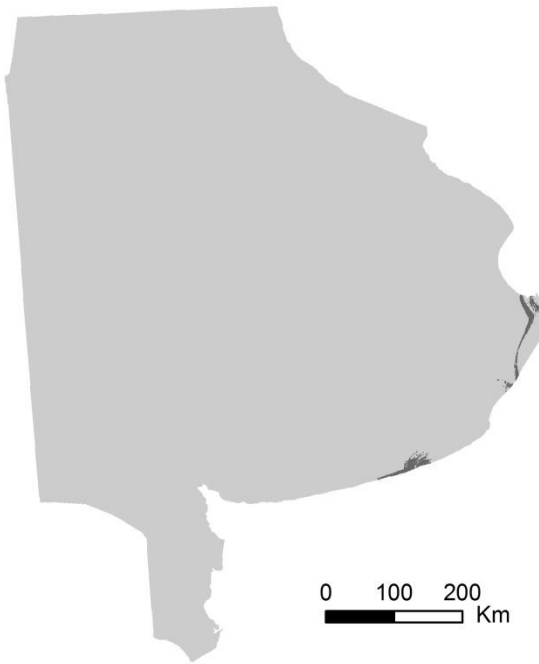
LQH	2.5	0.946275	0.0013480	0.044035	0.0012668	1116.387	144.442141	0.000000	12
LQ	2.5	0.916901	0.0038016	0.064869	0.0042080	1243.227	271.282473	0.000000	6
H	3	0.976098	0.0001014	0.01205	0.0001452	1133.829	161.883993	0.000000	10
LH	3	0.946634	0.0014456	0.039932	0.0015946	1136.612	164.667427	0.000000	9
QH	3	0.939881	0.0019939	0.046401	0.0021530	1131.978	160.033030	0.000000	8
LQH	3	0.947388	0.0013632	0.038762	0.0015025	1137.374	165.429770	0.000000	9
LQ	3	0.919431	0.0034974	0.062405	0.0038944	1246.614	274.668807	0.000000	5
H	3.5	0.976323	0.0000877	0.011307	0.0001278	1148.959	177.014659	0.000000	10
LH	3.5	0.947208	0.0014106	0.039284	0.0015432	1149.229	177.283919	0.000000	7
QH	3.5	0.939545	0.0020413	0.046759	0.0021864	1146.722	174.777552	0.000000	7
LQH	3.5	0.947673	0.0013842	0.038735	0.0015004	1148.512	176.567446	0.000000	7
LQ	3.5	0.920845	0.0033410	0.060913	0.0037104	1246.81	274.865246	0.000000	5
H	4	0.975593	0.0000897	0.011627	0.0001352	1158.953	187.008605	0.000000	9
LH	4	0.946364	0.0014679	0.039628	0.0015703	1163.988	192.043382	0.000000	7
QH	4	0.939094	0.0020735	0.046874	0.0021972	1162.272	190.327225	0.000000	7
LQH	4	0.946328	0.0014985	0.039928	0.0015943	1167.13	195.185677	0.000000	8
LQ	4	0.924352	0.0029478	0.057406	0.0032954	1247.051	275.106309	0.000000	5
H	4.5	0.975244	0.0000932	0.011048	0.0001220	1168.799	196.853993	0.000000	9
LH	4.5	0.943677	0.0016371	0.041659	0.0017354	1176.412	204.466853	0.000000	6
QH	4.5	0.936305	0.0023179	0.049191	0.0024198	1170.675	198.730311	0.000000	6
LQH	4.5	0.944145	0.0016245	0.041635	0.0017335	1172.017	200.072220	0.000000	7
LQ	4.5	0.928448	0.0025198	0.05331	0.0028419	1247.332	275.387696	0.000000	5
H	5	0.974639	0.0000939	0.011187	0.0001252	1178.876	206.931742	0.000000	9
LH	5	0.940128	0.0019538	0.04446	0.0019767	1179.026	207.080995	0.000000	5
QH	5	0.934081	0.0025347	0.051263	0.0026279	1177.676	205.730852	0.000000	6
LQH	5	0.94121	0.0018594	0.044098	0.0019447	1179.182	207.237676	0.000000	7
LQ	5	0.930571	0.0023112	0.051175	0.0026188	1247.656	275.711080	0.000000	5



Anexo 4. Mapas binarios obtenidos para *C. australis* a partir de los modelos bioclimáticos continuos, aplicando el Criterio de Umbral 1 (CU1) y el Criterio de Umbral 2 (CU2). El área gris oscuro muestra el hábitat adecuado para la especie.



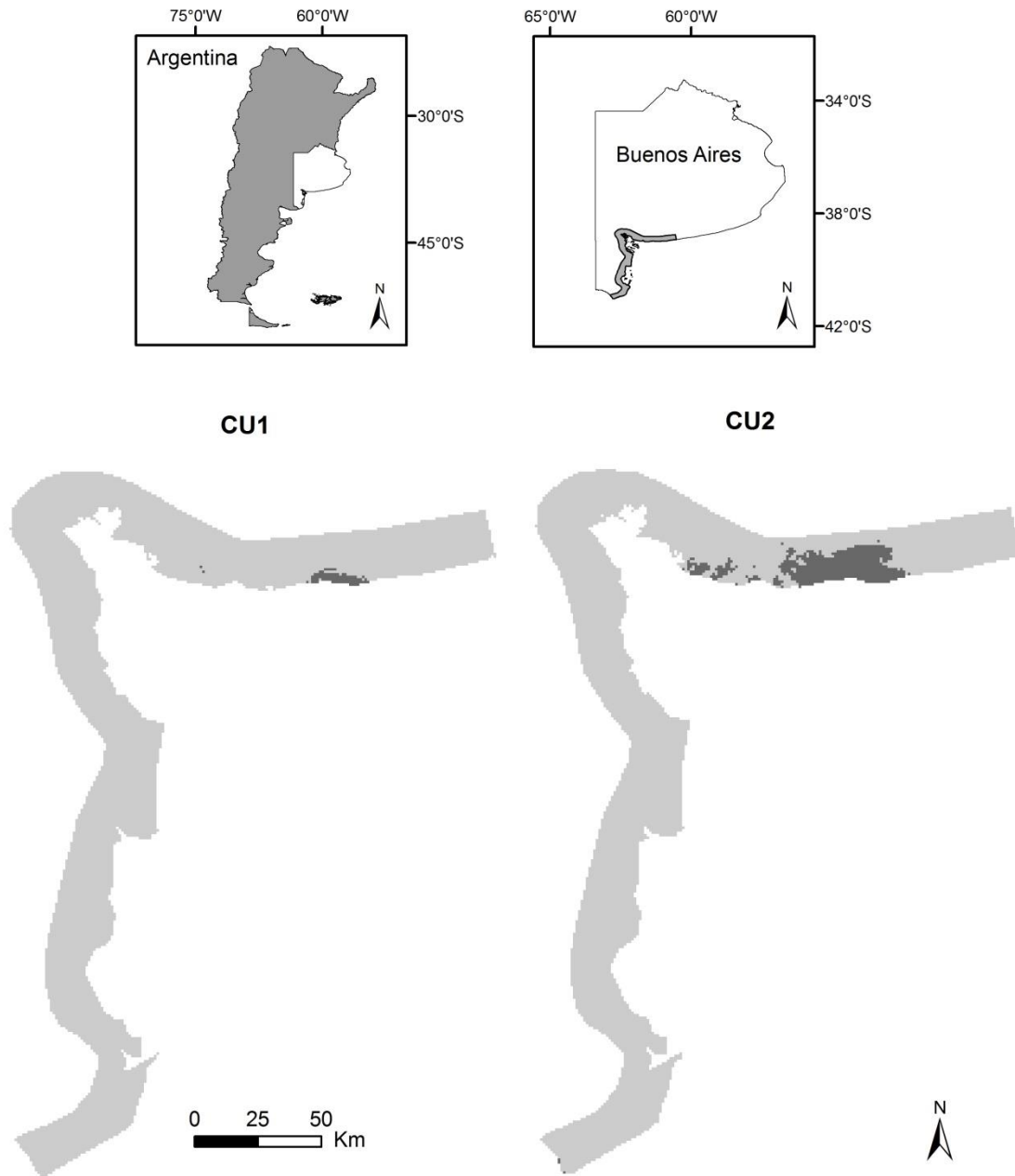
CU1



CU2



Anexo 5. Mapas binarios obtenidos para *C. talarum* a partir de los modelos bioclimáticos continuos, aplicando el Criterio de Umbral 1 (CU1) y el Criterio de Umbral 2 (CU2). El área gris oscuro muestra el hábitat adecuado para la especie.



Anexo 6. Mapas binarios obtenidos para *Ctenomys* sp. a partir de los modelos bioclimáticos continuos, aplicando el Criterio de Umbral 1 (CU1) y el Criterio de Umbral 2 (CU2). El área gris oscuro muestra el hábitat adecuado para la especie.

Anexo 7. Resultados de los experimentos de ajuste del modelo (con las variables granulométricas y bandas Landsat 8) usando ENMeval para *Ctenomys australis*. Matriz de los criterios de evaluación ordenados según AICc, el criterio óptimo utilizado para el ajuste del modelo. Sobresale en negrita la combinación de FC y MR con el AICc más bajo. Lineal (L), Cuadrático (Q), Hinge (H).

Feature Class	Multiplicador de Regularización	Media Test AUC	Prueba de varianza AUC	Media AUC DIFF	Varianza AUC DIFF	AICc	Delta AICc	W AIC	Parámetros
LQ	0.5	0.948899	0.00017002	0.012344	0.0001524	3172.585	114.8254905	0.000000000	13
H	0.5	0.953060	0.00018850	0.022021	0.0001878	3083.218	25.45902361	0.000002145	44
LH	0.5	0.952870	0.00021161	0.022343	0.0002191	3081.351	23.59175131	0.000005457	44
QH	0.5	0.952762	0.00021042	0.022374	0.0002184	3086.279	28.51925842	0.000000464	45
LQH	0.5	0.952732	0.00021666	0.022503	0.0002252	3089.226	31.46626388	0.000000106	46
LQ	1	0.946413	0.00013598	0.011905	0.0001417	3209.581	151.82117	0.000000000	11
H	1	0.955624	0.00013585	0.017001	0.0001675	3064.48	6.720164156	0.025151671	33
LH	1	0.955064	0.00014477	0.017831	0.0001769	3061.193	3.433569625	0.130089359	32
QH	1	0.955115	0.00015042	0.017589	0.0001795	3057.759	0	0.724155684	31
LQH	1	0.955104	0.00014643	0.017774	0.0001743	3061.345	3.585257168	0.120587764	32
LQ	1.5	0.946054	0.00007508	0.009969	0.0000994	3232.8	175.0402498	0.000000000	10
H	1.5	0.955781	0.00008588	0.014191	0.0001560	3081.564	23.80458687	0.000004906	30
LH	1.5	0.954561	0.00009405	0.015735	0.0001522	3092.759	34.99951608	0.000000018	32
QH	1.5	0.954324	0.00009978	0.015606	0.0001519	3084.993	27.23393744	0.000000883	30
LQH	1.5	0.954547	0.00009642	0.015575	0.0001504	3089.833	32.07321333	0.000000079	31
LQ	2	0.946150	0.00003654	0.007959	0.0000633	3243.668	185.9082553	0.000000000	10
H	2	0.955280	0.00007547	0.012191	0.0001486	3090.38	32.62092689	0.000000060	24
LH	2	0.954994	0.00007151	0.013117	0.0001373	3084.933	27.17342858	0.000000910	20
QH	2	0.954011	0.00007607	0.014033	0.0001277	3086.392	28.63285711	0.000000439	22
LQH	2	0.954811	0.00007394	0.013110	0.0001353	3090.616	32.85705441	0.000000053	22
LQ	2.5	0.945639	0.00001738	0.006618	0.0000438	3245.75	187.9910202	0.000000000	8
H	2.5	0.953791	0.00008108	0.011462	0.0001314	3097.364	39.60409719	0.000000002	20

LH	2.5	0.954648	0.00006918	0.011469	0.0001175	3102.219	44.45964197	0.000000000	18
QH	2.5	0.953442	0.00007918	0.012619	0.0001204	3102.593	44.83386791	0.000000000	20
LQH	2.5	0.954424	0.00007237	0.011573	0.0001202	3105.014	47.25496177	0.000000000	19
LQ	3	0.944773	0.00000786	0.005356	0.0000287	3249.557	191.7970798	0.000000000	8
H	3	0.952347	0.00009158	0.010578	0.0001119	3123.113	65.35373189	0.000000000	22
LH	3	0.953565	0.00007223	0.010053	0.0001011	3122.082	64.32228682	0.000000000	18
QH	3	0.952245	0.00009272	0.011634	0.0001143	3121.221	63.46122155	0.000000000	19
LQH	3	0.953224	0.00007735	0.010297	0.0001060	3119.347	61.58711367	0.000000000	17
LQ	3.5	0.945071	0.00000392	0.004075	0.0000166	3253.738	195.9784051	0.000000000	8
H	3.5	0.950864	0.00009647	0.009897	0.0000980	3125.696	67.93625274	0.000000000	15
LH	3.5	0.952413	0.00007212	0.008799	0.0000774	3129.937	72.17742533	0.000000000	14
QH	3.5	0.950743	0.00010500	0.010569	0.0001031	3135.024	77.26417583	0.000000000	17
LQH	3.5	0.952144	0.00007678	0.008861	0.0000785	3132.497	74.73796255	0.000000000	15
LQ	4	0.944983	0.00000296	0.003011	0.0000091	3261.091	203.3320673	0.000000000	9
H	4	0.949443	0.00009843	0.009696	0.0000940	3134.574	76.81460734	0.000000000	12
LH	4	0.950808	0.00007631	0.008249	0.0000680	3138.635	80.87582562	0.000000000	12
QH	4	0.949399	0.00010319	0.009609	0.0000922	3139.75	81.99087964	0.000000000	13
LQH	4	0.950498	0.00008060	0.008326	0.0000693	3138.716	80.95636922	0.000000000	12
LQ	4.5	0.944601	0.00000284	0.002307	0.0000053	3266.51	208.7509811	0.000000000	9
H	4.5	0.947649	0.00009661	0.009861	0.0000972	3151.117	93.35796208	0.000000000	13
LH	4.5	0.948806	0.00008293	0.008089	0.0000654	3143.459	85.69991362	0.000000000	10
QH	4.5	0.947599	0.00010107	0.009571	0.0000916	3144.959	87.19942483	0.000000000	11
LQH	4.5	0.948409	0.00008896	0.008320	0.0000692	3145.756	87.99617639	0.000000000	11
LQ	5	0.944395	0.00000205	0.002271	0.0000052	3272.975	215.2150789	0.000000000	9
H	5	0.946052	0.00010698	0.010327	0.0001066	3158.071	100.3117606	0.000000000	11
LH	5	0.947667	0.00007214	0.007865	0.0000619	3153.328	95.56822591	0.000000000	10
QH	5	0.945816	0.00009416	0.009624	0.0000926	3152.742	94.98300503	0.000000000	10
LQH	5	0.947227	0.00007734	0.008208	0.0000674	3155.431	97.67194332	0.000000000	11

Anexo 8. Resultados de los experimentos de ajuste del modelo (con variables granulométricas y bandas Landsat 8) usando ENMeval para *Ctenomys talarum*. Matriz de los criterios de evaluación ordenados según AICc, el criterio óptimo utilizado para el ajuste del modelo. Sobresale en negrita la combinación de FC y MR con el AICc más bajo. Lineal (L), Cuadrático (Q), Hinge (H).

Feature Class	Multiplicador de Regularización	Media Test AUC	Prueba de varianza AUC	Media AUC DIFF	Varianza AUC DIFF	AICc	Delta AICc	W AIC	Parámetros
LQ	0.5	0.874005	0.00223390	0.0509353	0.0025944	1721.977	49.4366019	0.000000000	13
H	0.5	0.902779	0.00045621	0.0630878	0.0006217	1748.025	75.4843018	0.000000000	37
LH	0.5	0.884810	0.00204629	0.0807981	0.0024496	1791.987	119.4462335	0.000000000	40
QH	0.5	0.903423	0.00060667	0.0614987	0.0007627	1775.659	103.1189383	0.000000000	39
LQH	0.5	0.885178	0.00192344	0.0797083	0.0022287	1777.833	105.2921854	0.000000000	39
LQ	1	0.865728	0.00208310	0.0501410	0.0025141	1726.591	54.0508834	0.000000000	13
H	1	0.902100	0.00067400	0.0538269	0.0008068	1693.942	21.4015967	0.000021508	28
LH	1	0.890548	0.00153739	0.0641026	0.0017467	1700.810	28.2700081	0.000000694	28
QH	1	0.901153	0.00089152	0.0522346	0.0009466	1720.145	47.6045217	0.000000000	31
LQH	1	0.894485	0.00128826	0.0593231	0.0013907	1699.324	26.7840060	0.000001458	28
LQ	1.5	0.857593	0.00144717	0.0462436	0.0021385	1734.995	62.4543487	0.000000000	13
H	1.5	0.898485	0.00094931	0.0478731	0.0010887	1691.550	19.0093418	0.000071134	25
LH	1.5	0.891058	0.00151890	0.0518103	0.0014543	1691.755	19.2151250	0.000064179	23
QH	1.5	0.896870	0.00108211	0.0445994	0.0010705	1696.168	23.6277115	0.000007067	24
LQH	1.5	0.890126	0.00153403	0.0518410	0.0014639	1690.014	17.4732413	0.000153335	23
LQ	2	0.853324	0.00109603	0.0428429	0.0018355	1740.670	68.1296346	0.000000000	12
H	2	0.892106	0.00081013	0.0430891	0.0011824	1682.701	10.1603463	0.005937655	20
LH	2	0.887883	0.00180048	0.0468109	0.0017597	1672.540	0	0.954786135	15
QH	2	0.895515	0.00108980	0.0363333	0.0010427	1681.669	9.1284692	0.009946819	17
LQH	2	0.888323	0.00170950	0.0449987	0.0016428	1679.861	7.3205533	0.024562250	17
LQ	2.5	0.852430	0.00108119	0.0424756	0.0018042	1741.560	69.0198795	0.000000000	10
H	2.5	0.885892	0.00069152	0.0368353	0.0013568	1701.897	29.3569951	0.000000403	20

LH	2.5	0.880058	0.00203158	0.0446500	0.0019936	1683.463	10.9230654	0.004055016	15
QH	2.5	0.889409	0.00109756	0.0330872	0.0010948	1688.203	15.6628753	0.000379102	15
LQH	2.5	0.880773	0.00185728	0.0429519	0.0018449	1696.734	24.1940465	0.000005324	18
LQ	3	0.851639	0.00106749	0.0418301	0.0017498	1746.405	73.8648650	0.000000000	10
H	3	0.880062	0.00049113	0.0354731	0.0012583	1726.880	54.3392574	0.000000000	20
LH	3	0.870376	0.00214951	0.0453224	0.0020541	1696.251	23.7107215	0.000006779	15
QH	3	0.880613	0.00101483	0.0314526	0.0009893	1699.879	27.3386250	0.000001105	14
LQH	3	0.873384	0.00175921	0.0427391	0.0018266	1706.976	34.4356134	0.000000032	17
LQ	3.5	0.851257	0.00100786	0.0407026	0.0016567	1751.609	79.0684009	0.000000000	10
H	3.5	0.875902	0.00034098	0.0338609	0.0011466	1740.445	67.9043456	0.000000000	17
LH	3.5	0.867203	0.00189805	0.0438878	0.0019261	1711.012	38.4718275	0.000000004	15
QH	3.5	0.873362	0.00083210	0.0298827	0.0008930	1718.418	45.8773432	0.000000000	15
LQH	3.5	0.868325	0.00167990	0.0418500	0.0017514	1722.661	50.1205819	0.000000000	17
LQ	4	0.850905	0.00089693	0.0395064	0.0015608	1753.886	81.3456154	0.000000000	9
H	4	0.871504	0.00027920	0.0318064	0.0010116	1749.806	77.2657092	0.000000000	16
LH	4	0.862955	0.00159559	0.0425487	0.0018104	1723.504	50.9634479	0.000000000	16
QH	4	0.869933	0.00075315	0.0286513	0.0008209	1720.023	47.4824312	0.000000000	13
LQH	4	0.863604	0.00145684	0.0408301	0.0016671	1728.425	55.8849245	0.000000000	16
LQ	4.5	0.850312	0.00078939	0.0382788	0.0014653	1755.440	82.8994396	0.000000000	8
H	4.5	0.865512	0.00033026	0.0286577	0.0008213	1745.696	73.1553736	0.000000000	12
LH	4.5	0.857466	0.00135136	0.0413821	0.0017125	1726.881	54.3407520	0.000000000	14
QH	4.5	0.864754	0.00065575	0.0276154	0.0007626	1728.332	55.7917814	0.000000000	13
LQH	4.5	0.860513	0.00122410	0.0395006	0.0015603	1734.334	61.7941199	0.000000000	15
LQ	5	0.849426	0.00069172	0.0369526	0.0013655	1755.902	83.3621818	0.000000000	8
H	5	0.858252	0.00046814	0.0254673	0.0006486	1752.175	79.6349754	0.000000000	12
LH	5	0.853458	0.00111603	0.0398513	0.0015881	1723.817	51.2769138	0.000000000	10
QH	5	0.858065	0.00057455	0.0272910	0.0007448	1732.536	59.9956458	0.000000000	12
LQH	5	0.856417	0.00089965	0.0382788	0.0014653	1733.226	60.6859380	0.000000000	12

Anexo 9. Resultados de los experimentos de ajuste del modelo (con variables granulométricas y bandas Landsat 8) usando ENMeval para *Ctenomys* sp. Matriz de los criterios de evaluación ordenados según AICc, el criterio óptimo utilizado para el ajuste del modelo. Sobresale en negrita la combinación de FC y MR con el AICc más bajo. Lineal (L), Cuadrático (Q), Hinge (H).

Feature Class	Multiplicador de Regularización	Media Test AUC	Prueba de varianza AUC	Media AUC DIFF	Varianza AUC DIFF	AICc	Delta AICc	W AIC	Parámetros
LQ	0.5	0.949484	0.00087761	0.036089	0.0012371	1789.499	80.38399247	0.000000000	15
H	0.5	0.914304	0.00106507	0.076159	0.0010747	1763.672	54.55692182	0.000000000	52
LH	0.5	0.926460	0.00041567	0.064748	0.0004691	1772.490	63.37480051	0.000000000	52
QH	0.5	0.930257	0.00025918	0.061066	0.0003165	1750.124	41.00816779	0.000000001	51
LQH	0.5	0.930656	0.00027467	0.060676	0.0003347	1792.062	82.94646887	0.000000000	56
LQ	1	0.955280	0.00090005	0.033091	0.0010950	1804.432	95.31641841	0.000000000	13
H	1	0.891330	0.00108976	0.095779	0.0010469	1709.115	0	0.708229526	34
LH	1	0.914193	0.00015714	0.074173	0.0002066	1714.223	5.10801504	0.055078570	32
QH	1	0.917857	0.00007245	0.071120	0.0001095	1727.289	18.17361687	0.000080135	35
LQH	1	0.917147	0.00007974	0.071581	0.0001222	1732.402	23.28656040	0.000006217	35
LQ	1.5	0.957952	0.00085459	0.031346	0.0009826	1816.381	107.26593811	0.000000000	12
H	1.5	0.897473	0.00215543	0.088838	0.0020138	1711.359	2.24325206	0.230705545	23
LH	1.5	0.922810	0.00030605	0.064871	0.0003859	1734.303	25.18814243	0.000002402	26
QH	1.5	0.926211	0.00012738	0.062463	0.0001803	1729.587	20.47162712	0.000025399	26
LQH	1.5	0.925594	0.00015775	0.062829	0.0002222	1736.780	27.66468413	0.000000696	28
LQ	2	0.960020	0.00079692	0.029667	0.0008801	1830.396	121.28019884	0.000000000	11
H	2	0.911827	0.00249896	0.074321	0.0023468	1718.701	9.58586204	0.005869898	18
LH	2	0.939141	0.00045809	0.047857	0.0006083	1750.600	41.48487867	0.000000001	20
QH	2	0.938425	0.00033643	0.049730	0.0004352	1748.823	39.70729890	0.000000002	21
LQH	2	0.939531	0.00029070	0.048705	0.0003875	1756.277	47.16190575	0.000000000	22
LQ	2.5	0.961590	0.00075210	0.028379	0.0008053	1842.859	133.74407608	0.000000000	10
H	2.5	0.921057	0.00242610	0.064922	0.0023183	1735.252	26.13677028	0.000001495	18

LH	2.5	0.948378	0.00044572	0.038153	0.0006302	1752.635	43.51919632	0.000000000	15
QH	2.5	0.949482	0.00040255	0.037954	0.0005490	1752.144	43.02888906	0.000000000	17
LQH	2.5	0.950578	0.00031994	0.037101	0.0004501	1764.167	55.05212245	0.000000000	19
LQ	3	0.962812	0.00071346	0.027243	0.0007422	1855.506	146.39088975	0.000000000	9
H	3	0.927617	0.00216647	0.058151	0.0021083	1740.486	31.37074268	0.000000109	15
LH	3	0.954367	0.00042840	0.032055	0.0006296	1757.190	48.07481528	0.000000000	14
QH	3	0.955609	0.00037624	0.031447	0.0005380	1757.023	47.90807135	0.000000000	16
LQH	3	0.955990	0.00033031	0.031292	0.0004839	1765.096	55.98073648	0.000000000	17
LQ	3.5	0.963205	0.00069856	0.026816	0.0007191	1873.376	164.26074123	0.000000000	9
H	3.5	0.932907	0.00192369	0.052232	0.0019403	1747.327	38.21200692	0.000000004	13
LH	3.5	0.958529	0.00042409	0.027139	0.0006654	1758.071	48.95545393	0.000000000	12
QH	3.5	0.960337	0.00036532	0.026175	0.0005477	1760.067	50.95185524	0.000000000	14
LQH	3.5	0.959848	0.00033406	0.026883	0.0005115	1765.450	56.33425132	0.000000000	14
LQ	4	0.963305	0.00068976	0.026700	0.0007129	1870.691	161.57591326	0.000000000	7
H	4	0.934756	0.00192886	0.049540	0.0020152	1762.210	53.09491899	0.000000000	14
LH	4	0.961447	0.00040338	0.024692	0.0006097	1758.667	49.55158530	0.000000000	10
QH	4	0.962137	0.00042576	0.024628	0.0006065	1767.760	58.64478071	0.000000000	14
LQH	4	0.961701	0.00039109	0.024586	0.0006045	1772.515	63.39968125	0.000000000	14
LQ	4.5	0.963538	0.00068107	0.026574	0.0007062	1871.336	162.22043690	0.000000000	7
H	4.5	0.937358	0.00193014	0.046078	0.0021010	1778.616	69.50093558	0.000000000	13
LH	4.5	0.963164	0.00041788	0.024033	0.0005776	1764.654	55.53908740	0.000000000	10
QH	4.5	0.962854	0.00049108	0.025070	0.0006285	1769.401	60.28586745	0.000000000	12
LQH	4.5	0.962900	0.00044759	0.024707	0.0006105	1776.078	66.96255412	0.000000000	13
LQ	5	0.963861	0.00066743	0.026315	0.0006925	1872.088	162.97239492	0.000000000	7
H	5	0.939477	0.00191338	0.045046	0.0020292	1787.704	78.58848891	0.000000000	12
LH	5	0.963491	0.00046120	0.024385	0.0005946	1767.956	58.84085857	0.000000000	9
QH	5	0.963129	0.00054271	0.025501	0.0006503	1776.613	67.49800240	0.000000000	12
LQH	5	0.963162	0.00049157	0.025089	0.0006295	1776.986	67.87101593	0.000000000	11

Capítulo IV

Influencia de las características del paisaje y las barreras históricas sobre la estructura genética poblacional del roedor subterráneo *Ctenomys australis*

Resumen

Entender los procesos y patrones de adaptación local y migración implica una comprensión profunda de cómo las características del paisaje y las distancias entre poblaciones configuran la variación genética a nivel geográfico. *Ctenomys australis* representa un excelente modelo para el estudio de patrones de dispersión porque comúnmente ocupa hábitats fragmentados y tiene una dispersión limitada en relación con la escala espacial de las discontinuidades del hábitat. Para evaluar los patrones de dispersión y la estructura poblacional en el rango geográfico completo de esta especie endémica, se utilizaron 13 loci de microsatélites en un total de 194 individuos correspondientes a 13 sitios de muestreo. Los análisis mostraron que las poblaciones se encuentran altamente estructuradas con bajas tasas de flujo génico entre ellas. La diferenciación genética entre los sitios de muestreo fue consistente con un patrón de aislamiento por distancia, y una fracción importante de la diferenciación de la población fue explicada por barreras naturales como ríos y arroyos. Aunque los individuos fueron muestreados en localidades distantes entre sí, también se utilizaron algunos enfoques genéticos del paisaje para evaluar los efectos de la configuración del paisaje sobre la conectividad genética de las poblaciones. Estos análisis mostraron que la disponibilidad de hábitat de dunas de arena (el hábitat más adecuado para la ocupación de la especie), fue uno de los principales factores en explicar los patrones de diferenciación de los sitios de muestreo ubicados a ambos lados del río Quequén Salado. Finalmente, la disponibilidad de hábitat se asoció directamente con el ancho del paisaje de dunas costeras en el sureste de la provincia de Buenos Aires, encontrando la mayor diferenciación genética entre las poblaciones del noreste, donde el paisaje es más estrecho.

Introducción

La forma en que se distribuye la variación genética de las especies a nivel geográfico conforma hoy en día uno de los componentes más importantes en el estudio de la genética de la conservación (Manel et al. 2003, 2005). La caracterización de la estructuración poblacional no solo brinda información fundamental sobre la ecología y evolución de las especies, sino que también nos provee información crítica para la identificación de unidades biológicas relevantes para la conservación (Cegelski et al. 2003; Manel et al. 2003, 2005).

En principio, el manejo de especies explotadas o el rescate de especies en peligro de extinción requiere de la identificación de unidades que se comporten independientemente en términos de la dinámica poblacional (Waples y Gaggiotti 2006). Una de las formas de estudiar la dinámica poblacional de las especies y delimitar unidades espacialmente discretas en paisajes altamente fragmentados, es cuantificando la conectividad poblacional y el flujo génico de los individuos mediante inferencias de las tasas de migración. El movimiento de dichos individuos (y de sus genes) dependerá en gran medida de las características que presenta el ambiente que habitan, ya que un paisaje fragmentado ofrece un mayor grado de heterogeneidad que puede restringir o promover esta dispersión (Sork et al. 1999, Hanski y Gaggiotti 2004, Crooks y Sanjayan 2006). De esta manera, más allá de las particularidades que pueda presentar una especie, la historia y evolución de los paisajes condiciona profundamente la forma en que la variación genética se particiona geográficamente (Apodaca et al. 2012). En este sentido, el estudio de la fragmentación de hábitat constituye una vía fundamental para evaluar la estructura poblacional, lo que influye en el nivel de variabilidad genética de la población a largo plazo (Hanski y Gaggiotti 2004). La pérdida de la variabilidad genética como resultado de la fragmentación de hábitat conduce no sólo a una disminución en la conectividad de las poblaciones, sino también a una reducción de sus tamaños efectivos (Hanski y Gaggiotti 2004), aumentando así el efecto de la deriva génica y los niveles de endogamia en dichas poblaciones (Crispo et al. 2011).

En las últimas tres décadas, el estudio de los patrones de dispersión a partir de marcadores moleculares mitocondriales y nucleares nos han ayudado a evitar dificultades en la estimación de la dispersión inherentes, por ejemplo, a los métodos de marca-captura-recaptura (Berry et al. 2004). En especial, en los últimos años han sido desarrolladas muchas metodologías basadas en algoritmos de asignación Bayesiana en virtud de estimar el grado de estructuración poblacional y flujo génico (Paetkau et al.

1995; Beaumont y Rannala 2004). Estas metodologías utilizan la información genética contenida en los genotipos multilocus (en general loci altamente variables en cuanto a sus niveles de polimorfismo) para determinar la probabilidad de pertenencia de los individuos muestreados, sin asumir poblaciones definidas a priori (Pritchard et al. 2000; François et al. 2006). De esta forma, se asume que los individuos que no son asignados a la población en la cual fueron muestreados pueden ser considerados como migrantes, permitiéndonos obtener estimaciones directas de las tasas de flujo génico (Paetkau et al. 1995; Maudet et al. 2002). Estos abordajes, a diferencia de las técnicas tradicionales (estimaciones de flujo génico a partir de los índices de fijación u F_{ST}) permiten conocer no sólo la identidad de los individuos migrantes, sino también los patrones de migración y dispersión de las especies (Maudet et al. 2002; Wilson y Rannala 2003; Berry et al. 2004; Coulon et al. 2004), contando con un poder de resolución estrictamente dependiente del grado de diferenciación poblacional y el número de loci polimórficos empleados (Manel et al. 2001; Manel et al. 2005).

En consonancia con otras especies del mismo género, *Ctenomys australis* (o tuco-tuco de las dunas) es solitario y altamente territorial (Zenuto y Busch, 1995, 1998). Los individuos de esta especie son altamente especialistas del hábitat de dunas y construyen grandes sistemas de cuevas sobre la primera franja de dunas costeras bonaerenses de la Barrera Austral, entre las localidades de Necochea y el Oeste de Pehuen-Có (Contreras y Reig 1965; Mora et al. 2006, 2007, 2010, 2017), Argentina (ver Capítulo I). La distribución de *C. australis* se encuentra restringida a los suelos blandos de dunas arenosas, ocupando un rango de distribución extremadamente reducido (aprox. 81 km², Kittlein et al. 2004). A nivel regional, el hábitat natural y característico de dunas costeras de *C. australis* es homogéneo en casi la totalidad de su rango de distribución (280 km lineales de costa), interrumpido en algunos casos por zonas bajas de pastizal intermedanoso, algunos pueblos y ciudades (ej. Claromecó y Monte Hermoso), cauces de pequeños arroyos (ej. arroyos Cristiano Muerto, Claromecó y Los Gauchos), y el cauce del Río Quequén Salado (Turno Orellano e Isla 2004). A una escala espacial más reducida (< 10 km), el hábitat es interrumpido, en algunos casos, por áreas bajas intermedanasas (Zenuto y Busch 1995; Kittlein et al. 2004; ver Capítulo I). La vegetación sobre las dunas arenosas es escasa, y dependiendo de la localización geográfica, el ancho de la franja de médanos costeros puede variar entre 200 m y 8 km (Frenguelli 1928; Contreras y Reig 1965; Zenuto y Busch 1995, 1998; Mora et al. 2006, 2007; ver Capítulo I). La profundidad de los sistemas de galerías, junto con restricciones bioenergéticas asociadas a costos de excavación y

termorregulación, impedirían la presencia de *C. australis* en sustratos más duros propios de pastizales bajos, restringiendo su distribución a una configuración de dunas con baja cobertura vegetal (Zenuto y Busch 1995; Mora et al. 2006; Luna y Antinuchi 2007).

En un estudio previo, Zenuto y Busch (1998) determinaron la composición de sexos y clases de edades en individuos migrantes a partir del desarrollo de un diseño de remoción y recaptura. Estos autores han sugerido que la dispersión entre poblaciones locales parecería ocurrir sobre la superficie, encontrando que la mayor proporción de los individuos que recolonizaban dicha área se encontraba compuesta por ejemplares inmaduros. La única información disponible sobre la escala ecológica en que podría operar la dispersión entre diferentes subpoblaciones de *C. australis* proviene de Mora et al. (2010), los cuales a partir de inferencias indirectas con marcadores moleculares han podido establecer que las hembras serían más filopátricas, al menos a escalas espaciales menores a los tres km. Como factor adicional, la distribución lineal a lo largo del ambiente de dunas costeras (Contreras y Reig 1965, Malizia et al. 1991) impone importantes restricciones al flujo génico, y más en general, a la dinámica de diferenciación dentro de la especie (ver Mora et al. 2006, 2007, 2010, 2017). Sumado a ello, el avance progresivo de las forestaciones y urbanizaciones sobre las dunas durante las últimas 5 décadas estarían influyendo en lo que respecta a la reducción y fragmentación del hábitat de esta especie a escala global (Kittlein et al. 2004; ver Capítulo I).

En función de diseñar medidas que apunten a la preservación del hábitat de *C. australis*, es necesario estudiar cómo la pérdida y/o fragmentación de su hábitat afectan la dinámica y estructuración genético-poblacional. Por ello, una delimitación más precisa de los límites de distribución de las poblaciones en todo el rango de distribución de la especie resulta fundamental para la determinación apropiada de la escala de conservación y manejo. Como fue expuesto anteriormente, existe poca información sobre las modalidades de dispersión en este grupo de especies de hábitos subterráneos, fundamentalmente a causa de las dificultades asociadas a la cuantificación directa de la migración en estudios de campo (Busch et al. 2000). El uso de aproximaciones indirectas basadas en marcadores genéticos hipervariables (ej. microsatélites) y técnicas estadísticas sofisticadas ayuda en gran medida a superar estas dificultades, brindando nuevas oportunidades de tener cuantificaciones confiables de las tasas de dispersión en roedores subterráneos. Dado su elevado nivel de polimorfismo, su carácter de codominancia y su fácil manipulación y análisis, los microsatélites resultan muy útiles para definir un único genotipo multilocus, siendo de gran importancia en estudios donde se

requiere una escala muy fina de resolución genético-poblacional y en los cuáles otros tipos de marcadores podrían presentar ciertas limitaciones (Kimberly y Toonen 2006).

En este Capítulo se usan datos de genotipos multilocus (basados en marcadores de microsátélites) y aproximaciones Bayesianas para caracterizar la estructura poblacional y los patrones de migración a una escala espacial que abarca todo el rango de distribución de *C. australis*. También analizamos el efecto que tienen diferentes variables ambientales sobre el grado de estructuración genética de esta especie. Por lo tanto, este enfoque proporciona resultados significativos que aclaran la importancia relativa de las barreras naturales y antrópicas, las distancias entre las poblaciones y el efecto de algunas variables del paisaje en los patrones actuales de flujo génico en esta especie costera endémica y en peligro de extinción.

Materiales y Métodos

Área de estudio y diseño de muestreo

El muestreo se realizó en el ambiente de dunas costeras entre las localidades de Necochea (38°37'S; 58°50'O) y Punta Alta (39°0'S; 61°36'O), Provincia de Buenos Aires, Argentina (Fig. 1), durante un período de cuatro años entre abril del 2013 y abril del 2017. En este sitio, las dunas presentan alturas entre los 30 y 50 metros sobre el nivel del mar, y una extensión de entre 200 m y 2 km (Zenuto y Busch 1998). Entre el 5 y 25 % del hábitat se encuentra cubierto por gramíneas como *Panicum racemosum*, *Poa lanuginosa*, *Hydrocotyle bonariensis*, *Calistegia soldanella* y *Adesmia incana* (Zenuto y Busch 1995). Un total de 194 individuos fueron capturados en 13 sitios de muestreo a lo largo del área completa de distribución de *C. australis*, con un promedio de 15 individuos por población. Las capturas se realizaron con trampas de captura viva Oneida Victor N°0 (Oneida Victor, Eastlane, Ohio), con una protección de goma con el fin de evitar daños sobre los individuos. La posición espacial de las capturas fue registrada con un GPS. Se obtuvieron muestras de tejido mediante la amputación de la primera falange de un dedo de una de las patas posteriores o del extremo de la cola (la experiencia indica que este procedimiento no afecta ni la supervivencia ni el desempeño en la excavación de los mismos). Las muestras fueron preservadas en etanol al 95 % para las subsecuentes extracciones de ADN y análisis genéticos. Luego de la toma de tejido para los análisis genéticos, cada individuo fue liberado dentro del mismo sistema de galería en el que había sido capturado. El tratamiento de los individuos se realizó teniendo en cuenta las pautas de la "American Society of Mammalogists" (Sikes et al. 2016).

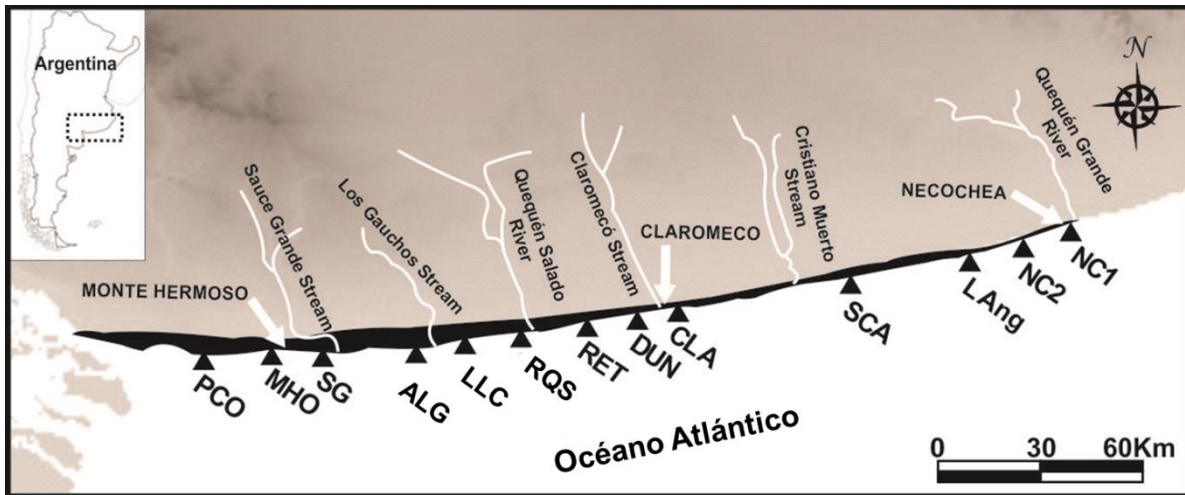


Figura 1. La Barrera Austral está representada por el polígono negro a lo largo del rango de distribución de *C. australis* en la costa de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Los triángulos indican los 13 sitios de muestreo en las dunas costeras y las flechas blancas indican la ubicación de las principales urbanizaciones. PCO: Pehuen-Có (39°0'S, 61°36'O); MHO: Monte Hermoso (38°59'S, 61°18'O); SG: Balneario Sauce Grande (38°59'S, 61°10'O); ALG: Arroyo Los Gauchos (38°58'S, 60°54'O); LLC: Laguna Los Carpinchos (38°56'S, 60°41'O); RQS: Río Quequén Salado (38°54'S, 60°31'O); RET: Balneario Reta (38°53'S, 60°19'O); DUN: Dunamar (38°52'S, 60°08'O); CLA: Claromecó (38°51'S, 59°59'O); SCA: Balneario San Cayetano (38°43'S, 59°26'O); LAng: Balneario Los Ángeles (38°40'S, 59°00'O); NC2: Necochea, Punta Negra (38°37'S, 58°50'O); NC1: Necochea, Puerto (38°34'S, 58°42'O).

Extracción de ADN

El ADN genómico fue aislado del tejido recolectado de cada uno de los individuos siguiendo una modificación del protocolo de Miller et al. (1988), el cual involucra un tratamiento con SDS (sodio-dodecil-sulfato) y digestión con proteinasa k, precipitación de proteínas con NaCl, y una subsiguiente precipitación de ADN con alcohol isopropílico. Las extracciones de ADN fueron depositadas con posterioridad en la colección del Laboratorio de Biología Molecular del Museo Argentino de Ciencias Naturales y en el IIMyC (CONICET, Universidad Nacional de Mar del Plata), en freezers a -70°C.

Amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) e identificación de los microsatélites

Trece loci de microsatélites desarrollados para las especies argentinas *Ctenomys haigi* (Hai2, Hai4, Hai5, Hai9, Hai10; Lacey et al. 1999) y *Ctenomys sociabilis* (Soc1, Soc2, Soc3, Soc5, Soc6, Soc8; Lacey 2001), y para la especie brasilera/uruguaya *Ctenomys torquatus* (Tor5, Tor9; Roratto et al. 2011) que probaron ser polimórficos en *C. australis* fueron empleados en el análisis. Todos los loci de microsatélites presentaron unidades repetitivas (“motif”) de dos pares de bases de longitud (Lacey et al. 1999), a excepción del locus Tor5 que presentó un motif de 4 pares de bases. Las amplificaciones por PCR se realizaron por separado para cada microsatélite, usando oligonucleótidos marcados con fluorescencia (SOC1, SOC2, SOC5, SOC6, SOC8, HAI9 y HAI10), y oligonucleótidos M13 sin marcar (SOC3, HAI2, HAI4, HAI5, TOR5 y TOR9). En el caso de estos últimos, solo el oligonucleótido *forward* está marcado con la cola M13, así como también los oligonucleótidos fluorescentes. Para el caso de los oligonucleótidos marcados con fluorescencia, la amplificación se realizó en un volumen final de 10 µl conteniendo 1 x Taq buffer (750 mM Tris-HCl, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0,1% (v/v) Tween 20), 2,5 mM MgCl₂, 0,6 mM dNTPs, 3 pmoles de cada oligonucleótido, 0,45 unidades de ADN Taq polimerasa (Fermentas) y 1 µl de ADN. Para los oligonucleótidos M13, las amplificaciones se llevaron a cabo en un volumen de reacción de 10 µl conteniendo 1 x Taq buffer (750 mM Tris-HCl, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0,1% (v/v) Tween 20), 2,5 mM MgCl₂, 0,6 mM dNTPs, 0,167 pmoles del oligonucleótido *forward*, 3 pmoles del oligonucleótido *reverse*, 6 pmoles del oligonucleótido fluorescente M13, 0,16 µg/µl de BSA, 0,45 unidades de ADN Taq polimerasa (Fermentas) y 1 µl de ADN. Los programas de PCR comprendieron una desnaturalización inicial a 94°C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 54°C (para SOC1, SOC2, HAI9, TOR5 and HAI10), 56°C (para SOC8) o 58°C (para HAI4, TOR9, HAI5, SOC5, SOC6, SOC3 and HAI2), y 30 segundos a 72°C. La extensión final se realizó a 72°C durante 5 minutos. Se incluyeron controles negativos en todas las PCR. Las reacciones se llevaron a cabo para cada locus por separado. Los productos de PCR marcados con fluorescencia fueron analizados con un secuenciador de capilares ABI3100 (MACROGEN, Inc., Korea) con el estándar de tamaño 400HD, y sobre placas de 96 pocillos. En el Anexo 1 se muestran las diferentes combinaciones de multiplexing, tamaños relativos de los fragmentos y los fluoróforos (HEX, NED y FAM) utilizados en cada caso. La lectura de los picos de microsatélites se realizó con el software Geneious 6.0.6 (Kearse et al. 2012).

Análisis estadísticos

Diversidad genética y estructura poblacional

La diversidad genética fue medida como el número de alelos por locus (A_t) y por sitio de muestreo (A), y la heterocigocidad observada (H_o) y esperada (H_e ; Nei 1978). Los análisis de desequilibrio de ligamiento entre pares de loci y posibles desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) fueron testeados usando ARLEQUIN 3.1 (Excoffier et al. 2005). Se usaron 10.000 pasos de dememorización y 100.000 iteraciones para la cadena de Markov implementado por el método de Guo y Thompson (1992). Se aplicaron correcciones secuenciales de Bonferroni para los tests de desequilibrio de ligamiento con el fin de corregir por múltiples comparaciones simultáneas (Rice 1989).

Se evaluó la presencia de alelos nulos, que surgen cuando las mutaciones en el sitio de unión de la secuencia de ADN objetivo evitan que uno de los cebadores se pegue, lo que resulta en un fallo de amplificación durante la reacción de PCR. Esto puede producir que las muestras en estado homocigota no produzcan ninguna amplificación, y en estado heterocigota aparezcan como individuos homocigotas para un locus particular (Rico et al. 2017). Para evaluar la presencia de alelos nulos con todos los sitios de muestreo agrupados se usó Cervus 3.0 (Kalinowski et al. 2007), teniéndose en cuenta un umbral de 0,1, frecuencia por encima de la cual se consideró la presencia de alelos nulos.

Se realizó una reconstrucción filogenética utilizando las distancias genéticas propuestas por Bruvo et al. (2004), que se basan en un “modelo mutacional por saltos” en el que se incluye la puntuación de repetición alélica. De este modo, se pueden comparar estos resultados con los realizados por STRUCTURE, en el cual se asume un “modelo de mezcla” con frecuencias alélicas correlacionadas. Esta reconstrucción filogenética se obtuvo usando el paquete “poppr” en R (Kamvar et al. 2014).

La estructura poblacional entre pares de sitios de muestreo fue testada a partir de los R_{ST} de Slatkin (1995) usando ARLEQUIN 3.1. Este parámetro tiene en cuenta el tamaño de los alelos y asume un modelo mutacional por saltos, constituyendo una medida mucho más robusta en comparación a la medida análoga de diferenciación genética F_{ST} , al considerar poblaciones de tamaño efectivo pequeño (Slatkin 1995).

Se usó el método bayesiano jerárquico implementado en GESTE 2.0 (Foll y Gaggiotti 2006) para estimar los F_{STs} locales. Este método utiliza la aproximación propuesta por Balding y Nichols (1995) para estimar los valores de F_{ST} para cada sitio de muestreo. Los valores estimados para cada sitio, representan las diferencias genéticas que existen entre una población local (o sitio de muestreo) en relación a todas las demás

poblaciones o sitios de muestreo (Foll y Gaggiotti 2006). Los valores más altos de F_{ST} s denotan una diferenciación más alta de un sitio de muestreo comparado al resto de los sitios muestrales como un todo (o el área completa de estudio). Se usaron 10 cadenas piloto de 5×10^3 iteraciones para obtener los parámetros de las distribuciones posteriores usadas por el algoritmo de las cadenas de Markov con procedimiento de Monte Carlo (MCMC). Luego de descartar las primeras $2,5 \times 10^4$ iteraciones (burn-in), las estimaciones de los valores de F_{ST} s locales fueron obtenidas usando 2×10^7 iteraciones adicionales con un intervalo de toma de datos de parámetros de 50. Para chequear la consistencia en las estimaciones se trabajó con dos corridas independientes con igual seteo de valores de parámetros.

La partición jerárquica de la variación genética entre grupos de poblaciones definidas a priori fue estimada a partir de Análisis Moleculares de la Varianza (AMOVAs) usando el ARLEQUIN 3.0. Los AMOVAs fueron corridos considerando 1) los trece sitios de muestreo como unidades independientes, y 2) tomando en cuenta las barreras naturales y antrópicas más importantes al flujo génico consideradas a priori para esta especie (ver Tabla 3).

Se empleó el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) para estimar el número más probable de unidades genéticas independientes (k subpoblaciones) en el rango total de distribución de la especie, y asignar a ellas los individuos muestreados. La aproximación bayesiana de STRUCTURE agrupa los individuos muestreados en un número de agrupamientos probables (K), de forma tal que se busca minimizar las desviaciones del equilibrio de H-W y el desequilibrio por ligamiento dentro de cada uno de los agrupamientos. El programa utiliza MCMC para estimar la probabilidad posterior de que los datos concuerden con la hipótesis de K agrupamientos genéticos. Al mismo tiempo calcula el valor de pertenencia (Q) de cada uno de los individuos en cada uno de los agrupamientos (dichos valores van de 0 a 1). Se permitió variar a K entre 1 y 15, eligiéndose el modelo de frecuencias alélicas correlacionadas y el modelo de genotipos mezclados (el cual contempla cierto grado de admixia) según lo sugerido por los creadores del software para poblaciones relacionadas (Falush et al. 2003). Se realizaron 5 corridas independientes para cada valor de K . De forma preliminar se observó que las corridas mostraron buena convergencia de las cadenas después de $1,5 \times 10^5$ iteraciones. Por lo tanto, se usó este valor de iteraciones como burn-in y se basaron las estimaciones en $1,5 \times 10^5$ iteraciones adicionales. La selección del número más probable de K se basó en los métodos de Pritchard y Wen (2003) y el método propuesto por Evanno et al.

(2005). Se utilizó un valor umbral de 0,7 como valor de corte para la asignación de individuos a poblaciones. El conjunto de individuos que presentaron valores por debajo de este umbral, fueron analizados con el test de exclusión implementado por GENECLASS (Cornuet et al. 1999), permitiendo determinar si los mismos pudieron haberse originado en poblaciones no muestreadas. Para esto, utilizamos el método bayesiano reportado por Rannala y Mountain (1997) y el algoritmo de simulación descrito por Paetkau et al. (2004), ambos implementados en GENECLASS. Según lo sugerido por Paetkau et al. (2004), utilizamos un valor umbral de exclusión de 0,01.

En función de examinar la historia demográfica en cada sitio de muestreo se utilizó el programa 2MOD (Ciofi et al. 1999). La probabilidad de que dos alelos sean idénticos por descendencia es descripta a partir de la distribución de frecuencias de los valores F , los cuales pueden ser interpretados como una medida relativa del efecto de la deriva genética y la dispersión sobre localidades individuales (Ciofi et al. 1999). Se corrieron 1×10^6 iteraciones de la MCMC, siendo que el 10% de los datos iniciales fueron descartados en función de obtener una distribución posterior confiable de F . Se llevaron a cabo dos corridas independientes para corroborar la consistencia de las estimaciones.

Además, a partir de un modelo lineal generalizado (MLG) implementado en GESTE, se evaluó la asociación entre la estructura poblacional (F_{ST} s locales) y distintos factores ambientales que denotan la posición y conectividad geográfica de los sitios de muestreo. Las probabilidades posteriores asociadas con cada factor ambiental, permiten identificar aquellos más influyentes en la estructuración genética poblacional. Se analizó los efectos de 10 variables ambientales sobre la estructura genética de *C. australis*. Dos de estas variables describen la posición geográfica de los sitios de muestreo. La -Longitud geográfica- en coordenadas UTM se incluyó entre estas variables. Dada la distribución lineal de esta especie en las dunas costeras, se incluyó un factor que controla el efecto de la posición geográfica de los sitios de muestreo. Así, para cada localidad muestreada se calculó la -Distancia media a otros sitios de muestreo-. Para caracterizar la matriz del paisaje alrededor de los sitios de muestreo, se usaron ocho variables derivadas de un modelado de hábitat potencial obtenido con MaxEnt 3.4.1 (Phillips et al. 2006). Los detalles del seteo de MaxEnt y las variables ambientales implementadas para el modelado se describen en Anexo 2. Posteriormente, a partir de un área artificial delimitada por un rectángulo de 20 km de largo por ocho km de ancho (ancho total de la barrera de dunas), evaluamos las siguientes variables: -Área de hábitat óptimo (ha)-, -Área de hábitat no óptimo (ha)-, -Tamaño medio del parche de hábitat óptimo (ha)-, -

Desvío estándar del tamaño de parche de hábitat óptimo (ha)-, -Número de parches de hábitat óptimo- , Distancia euclídeana al vecino más cercano (m)- y -Conectividad entre parches de hábitat óptimo (%)-. Todas estas variables fueron obtenidas usando el software Fragstats 4.2.1 (McGarigal et al. 2012). La Conectividad, de acuerdo con McGarigal et al. (2002), representa la cantidad de uniones funcionales entre los parches correspondientes al mismo tipo de hábitat, donde cada par de parches están conectados de acuerdo a un criterio de distancia específico.

$$CONNECT = \left[\frac{\sum_{j=k}^n C_{ijk}}{ni(ni-1)} \right] (100)$$

Aquí, c_{ijk} representa la unión entre el parche j y k (0= no unido, 1= unido) para el tipo de parche i , basado en una distancia umbral específica, y ni es el número de parches en el paisaje correspondiente al tipo de parche i . Se usó un valor de distancia de 400 metros, la cual corresponde a la distancia de dispersión media estimada para roedores con tamaños corporales similares a *C. australis* (Sutherland et al. 2000). Finalmente, se incluyó la variable -Ancho de la barrera Austral-, que se midió como la distancia euclídeana entre los límites transversales de la barrera de dunas correspondiente a cada sitio de muestreo. El seteo de los distintos parámetros de GESTE fue el mismo que el realizado para la estimación de los F_{ST} locales. Se realizó una correlación de Pearson para evaluar la asociación entre los F_{ST} locales y los valores de factores ambientales significativos.

Patrón de aislamiento por distancia

La puesta a prueba de un patrón de aislamiento por distancia (PAD) fue llevada a cabo a partir de un test de Mantel (Mantel 1967), en donde se correlacionaron las distancias genéticas (R_{ST} s pareados) y las distancias geográficas lineales entre pares de sitios de muestreo. Típicamente se espera que especies con habilidades dispersivas limitadas y que han permanecido un tiempo suficiente en equilibrio entre deriva genética y migración presenten un PAD (Wlasiuk et al. 2003; Mora et al. 2006, 2016). Para corroborar si nuestros datos se justan a un modelo de equilibrio entre deriva genética local y flujo génico (necesario para el establecimiento de un PAD) se usó el programa 2MOD (Ciofi et al. 1999), que calcula las probabilidades relativas de dos modelos de estructura de la población. Estos modelos de estructura poblacional tienen en cuenta 1) equilibrio

entre deriva y migración, o 2) un modelo de deriva pura. En la primera situación, equilibrio entre deriva y migración, las frecuencias de alelos en las poblaciones actuales han sido el resultado de un equilibrio entre el flujo de genes y deriva genética local. Por otro lado, un modelo de deriva genética pura, toma en consideración que las frecuencias alélicas en cada localidad fueron formadas puramente por cambios aleatorios, siendo que el efecto de la dispersión entre las poblaciones habría sido insignificante. 2MOD utiliza el procedimiento de MCMC para comparar las probabilidades relativas de los dos escenarios posibles. La simulación de MCMC se ejecutó para 1×10^6 iteraciones, descartándose el 10% inicial de los datos (burn-in). Se verificó la consistencia de las estimaciones mediante dos corridas independientes.

Tasas de migración históricas y contemporáneas

Para estimar los patrones de flujo génico a corto plazo (entre las últimas tres y cinco generaciones) se utilizó BAYESASS 3.0 (Wilson y Rannala 2003). Este programa, basado en un enfoque bayesiano de MCMC, utiliza un método de asignación genética sin hacer suposiciones de equilibrio genético para estimar las tasas de migración recientes, por lo que resulta más apropiado para estimar las tasas de dispersión a corto plazo (Paetkau et al. 2004). La tasa de migración $m(i, j)$ representa la fracción de individuos en la población i que son migrantes derivados de la población j (por generación); asume que una parte de los alelos de un individuo se origina a partir de un único migrante que alcanzó la generación actual (o pasada; Wilson y Rannala 2003). Este método asume que las tasas de migración entre poblaciones pueden ser asimétricas, siendo constantes durante períodos cortos de tiempo (pocas generaciones); estas tasas de migración también son pequeñas (Wilson y Rannala 2003). Aunque BAYESASS asume equilibrio de ligamiento entre diferentes loci, permite desviaciones en las proporciones de Hardy-Weinberg al introducir un parámetro de endogamia adicional (F). Se ejecutó un total de 20 millones de iteraciones de MCMC, descartando los primeros 5 millones como burn-in, y muestreando cada 1.000 iteraciones la MCMC. Se usaron varios valores delta para las tasas de migración (m), las frecuencias alélicas (P) y los valores de endogamia (F), y se evaluó la convergencia de las cadenas realizando múltiples corridas con diferentes semillas aleatorias iniciales. Cuando se obtuvo las tasas de aceptación recomendadas por los autores del programa (entre 20% y 40%), se realizaron cinco corridas independientes (cada una con valores de semillas diferentes) con la misma configuración que la realizada anteriormente. Luego, se evaluó la convergencia para cada corrida con TRACER 1.6.0

(Rambaut et al. 2014) y se seleccionó la corrida con la desviación bayesiana más baja [ver Spiegelhalter et al. (2002) y Faubet et al. (2007) para más detalles].

Para estimar los patrones de flujo génico a largo plazo, se utilizó MIGRATE 3.6.11 (Beerli y Felsenstein 2001; Beerli 2006). Este programa utiliza la teoría coalescente y las técnicas de MCMC para estimar dos parámetros a partir de los datos de microsatélites, θ y M ; θ representa un estimador del tamaño efectivo de la población ($4Ne\mu$, para ADN nuclear), y M representa la tasa de inmigración escalada por mutación (m/μ). Este enfoque basado en la coalescencia resulta adecuado para estimar las tasas de migración sobre miles de años o $4Ne$ generaciones en el pasado (Beerli 2008). Debido a que *C. australis* presenta una distribución lineal en el sureste de la provincia de Buenos Aires, y teniendo en cuenta su baja tasa de dispersión (propia de estos roedores subterráneos), se analizó un modelo de migración "stepping-stone", donde M se estimó solo para los sitios de muestreo vecinos. Se asumió que los datos siguen un modelo de mutación de movimiento Browniano. Siguiendo las recomendaciones del autor de MIGRATE 3.6.11 (Peter Beerli comm. Pers.), las primeras ejecuciones de los datos se realizaron usando F_{ST} para encontrar los parámetros iniciales, y los resultados de estas ejecuciones se usaron como parámetros de inicio para las ejecuciones posteriores. Las distribuciones se estimaron mediante el método bayesiano, ejecutando cinco réplicas, cada una con cuatro cadenas de calentamiento a temperaturas de 1, 1,5, 3 y 10.000 para aumentar la eficiencia de MCMC, con un incremento de muestreo de 100, con 5.000 pasos registrados y un burn-in de 100.000. Debido a que las estimaciones de los parámetros de la corrida final fueron similares a los resultados de las corridas más cortas, se asumió convergencia para la corrida final (Chicchi y Gibbs 2010). Para comparar las estimaciones de MIGRATE y BAYESASS, se procedió a convertir las estimaciones de M de MIGRATE en proporción de migrantes (m) de las poblaciones mediante la fórmula $m = M \mu$, donde $\mu = 5 \times 10^{-4}$ (tasa de sustitución común de microsatélites asumida para vertebrados; ver Waples y Do 2010). Finalmente, se realizó una prueba de correlación de Pearson para verificar una probable asociación entre los valores de m contemporáneos (BAYESASS) e históricos (MIGRATE).

Además, para aquellos individuos con valores de Q inferiores a 0,7, se evaluó la probabilidad de que sean migrantes de primera generación provenientes de una población cercana a los sitios donde fueron muestreados. Se emplearon dos programas distintos para llevar a cabo los análisis de "Migrantes de primera generación". En primer lugar, se usó GENECLASS empleando el método basado en frecuencia reportado por Paetkau et

al. (1995) y el algoritmo de simulación descrito por Rannala y Mountain (1997). Este método calcula un porcentaje de probabilidad de la población donde se muestreó al individuo, sobre el valor de probabilidad más alto entre todas las poblaciones muestreadas, incluida la población donde se muestreó al individuo (Paetkau et al. 2004). Se determinaron los valores de probabilidad simulando 10.000 individuos, con un umbral de exclusión de 0,01 (Paetkau et al. 2004). En segundo lugar, se usó BAYESASS (Wilson y Rannala 2003) que emplea un método bayesiano sin asumir equilibrio, obteniéndose las probabilidades posteriores de ascendencia para cada individuo. Se ejecutó un total de 2×10^7 iteraciones de MCMC, descartando las primeras 5×10^6 iteraciones como burn-in y muestreando la cadena cada 1.000 generaciones.

Dispersión sesgada al sexo

La probabilidad de pertenencia de cada individuo a cada uno de los agrupamientos genéticos inferidos a partir del STRUCTURE, puede ser interpretado como el porcentaje del genoma del individuo que puede ser asignado a cada uno de dichos agrupamientos (Chen et al. 2007). Diferencias significativas entre estos valores testeados por sexo pueden ser consideradas como evidencia de filopatría o dispersión sesgada al sexo. Así, en base a los resultados de los agrupamientos, se generaron categorías de pertenencia (Q) en ambos sexos, comparándose la proporción de machos y hembras presentes en cada una de ellas, a nivel local y con el conjunto de las muestras.

Además, inferencias sobre patrones de dispersión sesgado al sexo fueron testeados con el uso de cuatro índices estadísticos calculados con el uso del programa Fstat 2.9.3.2 (Goudet 2001). Los primeros dos corresponden a los descriptores globales tradicionales de estructura poblacional, F_{IS} y F_{ST} (Weir y Cockerham 1984); y los otros dos están basados en la asignación de genotipos individuales (índices de asignación, AI): la media del índice de asignación corregido (mAlc), y la varianza de Alc (vAlc; Favre et al. 1997).

Según Favre et al. (1997), los índices de asignación establecen la probabilidad que un genotipo individual pueda ocurrir en la población en la cual fue muestreado. Los índices de asignación de individuos son estandarizados para eliminar el efecto de la población. Así, los valores de índices de asignación corregidos (Alc) son calculados sustrayendo el índice de asignación medio para una población dada del índice de asignación del individuo, con una transformación logarítmica para evitar errores de redondeo con números muy bajos. De esta forma, la distribución de los Alc resulta

centrada en 0. Un valor positivo indica que un genotipo particular es más probable de ocurrir que el promedio de su muestra (mayor probabilidad de ser un individuo residente), mientras que un valor negativo indica que un genotipo es menos probable que su promedio (mayor probabilidad de ser un dispersante). A causa de que los migrantes tienden a tener valores de Alc más bajos que los residentes, y teniendo en cuenta una dispersión sesgada al sexo, se espera que los individuos del sexo que realicen movimientos dispersivos a mayores distancias presenten un valor de $mAlc$ más bajo y $vAlc$ más amplio que individuos del sexo filopátrico. El nivel de significancia de cada uno de estos índices fue testeado para cada sexo por un método de randomización implementado por el Fstat (Goudet 2001).

Por otro lado, en presencia de dispersión sesgada al sexo, se espera que los individuos del sexo dispersante presentes valores más bajos de F_{IS} que el sexo más filopátrico (ver Goudet 2001).

Resultados

Alelos nulos, equilibrio de Hardy–Weinberg, desequilibrio de ligamiento y variabilidad genética

Todos los loci mostraron frecuencias significativas de alelos nulos con un nivel de corte superior a 0,1 cuando se agruparon todos los sitios de muestreo. Rico et al. (2017) sugirieron que las altas frecuencias de alelos nulos observados en varios estudios de diferentes vertebrados e invertebrados, no parecen tener un efecto significativo en las estimaciones de los parámetros genéticos de la población evaluados a partir de loci de microsatélites. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los valores considerados en este estudio se encontraron al límite del valor umbral. Según Kalinowski et al. (2007) y Rico et al. (2017), una alta probabilidad de presencia de alelos nulos puede deberse a la estructura genética endogámica presente en las poblaciones, y no a la falta de amplificación sistemática de alelos. Mora et al. (2010) reportaron, para *C. australis* a una escala espacial pequeña, niveles más bajos de polimorfismo para los mismos loci que los estudiados aquí, pero con probabilidades más bajas de presencia de alelos nulos. En este estudio, el nivel de polimorfismo obtenido para la mayoría de los loci fue similar en comparación con otros estudios de diferentes especies de *Ctenomys* (por ejemplo, Wlasiuk et al. 2003). Tomando en consideración lo anterior, es que ninguno de ellos fue descartado en los análisis posteriores.

Ninguna comparación pareada entre loci mostró desequilibrio de ligamiento, sugiriendo así que los 13 loci presentan una herencia independiente. Solo 20 casos de un total de 169, producto de las comparaciones entre los 13 loci y los 13 sitios de muestreo, mostraron desviaciones significativas del equilibrio de Hardy-Weinberg: SOC2 en NC1, NC2, CLA y DUN, SOC6 en NC1, NC2, SCA, DUN, RQS y LLC, SOC5 en LAng y RQS, HAI4 en NC2, SCA, RQS y PCO, TOR9 en LAng y HAI5 en NC2, LLC y ALG (Tabla 1; las abreviaturas de los sitios de muestreo se muestran en la Fig.1). Todas estas desviaciones fueron causadas por un exceso de homocigotos.

Los parámetros de diversidad genética para cada sitio de muestreo se muestran en el Tabla 1. Las frecuencias alélicas de los microsatélites se muestran en el Anexo 3. Los loci utilizados en este estudio mostraron un número total de alelos por locus de entre cuatro (TOR 9) y 14 (HAI4) (Anexo 3), mientras que el promedio por locus fue de 8,77 alelos. En general, nuestros resultados mostraron niveles moderados de polimorfismo para todos los loci analizados. Todos los sitios de muestreo tenían al menos 11 loci polimórficos. Se observó, en general, un incremento de la riqueza de alelos hacia el suroeste de la distribución de la especie; NC1 y CLA presentaron los niveles más bajos (1,77 y 2,08, respectivamente), mientras que ALG y MHO presentaron los niveles más altos (3,44 y 3,42, respectivamente). La riqueza alélica por localidad para todos los loci y la riqueza alélica media por localidad se muestran en el Anexo 4.

Tabla 1. Parámetros de diversidad genética de *C. australis*. N: número de individuos por población (ubicado entre paréntesis contiguo a cada localidad); At: número de alelos por locus; Ni: número de alelos por población de cada loci; Ho: heterocigosidad observada; He: esperaba heterocigosidad. Se muestran las desviaciones significativas entre los niveles de heterocigosidad observados y esperados. * P <0,05.

Sitios de muestreo (N)		NC1 (12)			NC2 (20)			LAng (12)			SCA (13)			CLA (17)		
Loci	At	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He
SOC 1	6	1	0	0	1	0	0	2	0,42	0,43	4	0,77	0,74	4	0,59	0,72
SOC 2	12	3	0*	0,30	7	0,55*	0,74	5	0,67	0,69	6	0,54	0,69	3	0,18*	0,55
SOC 3	12	2	0,58	0,49	5	0,55	0,57	5	0,58	0,55	6	0,77	0,77	2	0,35	0,30
SOC 6	10	2	0*	0,16	2	0*	0,10	2	0,08	0,08	3	0,31*	0,49	3	0,18	0,17
HAI 2	7	3	0,42	0,36	2	0,10	0,10	2	0,50	0,39	2	0,50	0,52	1	0	0
SOC 5	10	2	0,33	0,46	4	0,55	0,53	3	0,42*	0,62	2	0,08	0,08	2	0,53	0,40
SOC 8	7	2	0,5	0,46	3	0,55	0,56	3	0,50	0,41	3	0,46	0,57	1	0	0
HAI 4	14	1	0	0	2	0*	0,10	2	0,09	0,09	4	0,23*	0,62	4	0,71	0,69
HAI 9	9	2	0,08	0,23	2	0,30	0,47	3	0,45	0,51	3	0,77	0,67	3	0,41	0,35
TOR 5	8	2	0,08	0,08	2	0,15	0,22	2	0,50	0,39	2	0,31	0,37	2	0,18	0,17
TOR 9	4	2	0,5	0,46	2	0,45	0,48	4	0,50*	0,68	2	0,46	0,37	2	0,53	0,51
HAI 5	7	2	0,33	0,52	5	0,40*	0,57	2	0,17	0,17	2	0,46	0,52	2	0,47	0,43
HAI 10	8	2	0,08	0,08	3	0,4	0,54	2	0,60	0,47	2	0,38	0,51	2	0,29	0,34
Media	8,77	2,2	0,26	0,33	3,2	0,33	0,41	2,8	0,42	0,42	3,1	0,46	0,53	2,6	0,40	0,42

Sitios de muestreo (N)		DUN (16)			RET (17)			RQS (17)			LLC (14)			ALG (15)		
Loci	At	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He
SOC 1	6	3	0,50	0,57	2	0,41	0,45	5	0,82	0,75	5	0,64	0,69	3	0,47	0,55
SOC 2	12	5	0,44*	0,76	3	0,65	0,53	5	0,53	0,66	7	0,86	0,81	7	0,93	0,81
SOC 3	12	2	0,06	0,06	4	0,81	0,75	3	0,65	0,60	3	0,38	0,52	5	0,73	0,73
SOC 6	10	5	0,25*	0,47	4	0,35	0,47	4	0,35*	0,48	4	0,29*	0,55	5	0,53	0,53

HAI 2	7	3	0,38	0,40	1	0	0	1	0	0	2	0,27	0,25	3	0,46	0,52
SOC 5	10	4	0,69	0,65	4	0,65	0,58	5	0,65*	0,75	5	0,57	0,62	4	0,53	0,56
SOC 8	7	1	0	0	3	0,65	0,49	3	0,47	0,51	4	0,57	0,68	3	0,47	0,43
HAI 4	14	5	0,56	0,59	6	0,59	0,62	7	0,53*	0,71	6	0,71	0,74	6	0,67	0,73
HAI 9	9	4	0,63	0,58	3	0,76	0,67	6	0,88	0,78	4	0,38	0,62	6	0,73	0,68
TOR 5	8	3	0,63	0,66	4	0,82	0,75	6	0,59	0,74	6	0,79	0,75	6	0,87	0,83
TOR 9	4	2	0,19	0,27	1	0	0	2	0,06	0,06	2	0,14	0,14	2	0,40	0,46
HAI 5	7	2	0,31	0,42	2	0,35	0,30	2	0,29	0,26	4	0,36*	0,71	4	0,53*	0,63
HAI 10	8	4	0,44	0,60	4	0,76	0,61	4	0,71	0,75	4	0,38	0,34	4	0,47	0,68
Media	8,77	3,5	0,42	0,50	3,5	0,62	0,56	4,3	0,54	0,59	4,3	0,49	0,57	4,5	0,60	0,63

Sitios de muestreo (N)		SG (12)			MHO (9)			PCO (20)		
Loci	At	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He	Ni	Ho	He
SOC 1	6	3	0,42	0,36	3	0,67	0,66	2	0,30	0,26
SOC 2	12	6	1,00	0,84	4	0,56	0,60	4	0,70	0,71
SOC 3	12	2	0,25	0,34	6	0,78	0,68	3	0,74	0,67
SOC 6	10	4	0,50	0,73	3	0,67	0,66	5	0,50	0,57
HAI 2	7	3	0,50	0,58	1	0	0	5	0,47	0,51
SOC 5	10	2	0,33	0,52	4	0,78	0,73	6	0,50	0,46
SOC 8	7	4	0,50	0,68	5	0,67	0,77	5	0,80	0,70
HAI 4	14	7	0,67	0,85	5	0,44	0,48	6	0,55*	0,77
HAI 9	9	5	0,83	0,71	5	0,67	0,73	5	0,60	0,61
TOR 5	8	5	0,75	0,72	6	0,78	0,72	5	0,60	0,71
TOR 9	4	2	0,50	0,51	2	0,22	0,21	1	0	0
HAI 5	7	4	0,50	0,57	4	0,78	0,67	4	0,70	0,58
HAI 10	8	4	0,83	0,74	6	0,67	0,78	3	0,65	0,64
Media	8,77	3,9	0,58	0,63	4,4	0,64	0,64	4,4	0,59	0,60

Estructuración genética poblacional

Los resultados obtenidos a partir de la reconstrucción filogenética utilizando las distancias genéticas de Bruvo (Bruvo et al. 2004), mostraron 11 unidades genéticas a partir de los 13 sitios de muestreo originales, con NC1-NC2 y RQS-LLC como grupos únicos (ver Anexo 5).

La mayoría de las comparaciones pareadas de R_{ST} mostraron diferencias significativas, a excepción del par RQS/LLC que presentan una distancia de 15 km entre ellos (Tabla 2). Los valores de R_{ST} variaron entre 0,04 (entre RQS y LLC) y 0,79 (entre NC1 y CLA). NC1/CLA y NC2/CLA fueron los sitios de muestreo más diferenciados, mientras que RQS/LLC y DUN/RET resultaron ser las que presentaron menor diferenciación (Tabla 2).

Los valores locales de F_{ST} estimados con GESTE se muestran en la Figura 3. Las localidades del noreste del rango de distribución de la especie (desde NC1 hasta RET) mostraron los valores locales de F_{ST} más altos, lo que sugiere un mayor grado de aislamiento en relación con las localidades del suroeste (desde RQS hasta PCO), que presentaron valores más bajos y similares entre sí (Tabla 2).

Sin considerar agrupamientos poblacionales definidos a priori, el AMOVA mostró una alta diferenciación genético-poblacional ($\Phi_{ST} = 0,38$, $p < 0,001$; Tabla 3). Por otro lado, ningún nivel de agrupamiento poblacional considerando diferentes tipos de barreras naturales y antrópicas, mostró una diferenciación mayor que para el caso particular en donde las barreras no fueron tenidas en cuenta. Solo cuando los sitios de muestreo fueron agrupados en ocho grupos (considerando los ríos, arroyos y las urbanizaciones más grandes), la diferenciación poblacional fue casi tan alta como el caso particular en el que no se consideraron las barreras ($\Phi_{CT} = 0,29$, $p < 0,001$, Tabla 3). Esta situación sugiere que el 29% de la divergencia poblacional (esas diferencias no tienen en cuenta las poblaciones divididas en grupos) es explicado por las barreras como ríos y urbanizaciones. De hecho, las diferencias entre poblaciones en diferentes regiones son responsables de prácticamente toda la diferenciación entre poblaciones. Además, el Río Quequén Salado parece explicar al menos el 15% de la variación total entre poblaciones.

Tabla 2. Estimaciones de los R_{ST} pareados (Slatkin 1995) entre los sitios de muestreo para *C. australis*. También se muestran las estimaciones de F_{ST} locales entre cada sitio de muestreo. Los valores entre paréntesis corresponden al intervalo de probabilidad posterior más alto del 95%. Las abreviaturas para los sitios de muestreo se definen en la figura 1. * $P < 0,001$.

	NC1	NC2	LAng	SCA	CLA	DUN	RET	RQS	LLC	ALG	SG	MHO	PCO	F_{ST} Local
NC1	-													0,64 (0,519-0,763)
NC2	0,16*	-												0,47 (0,365-0,577)
LAng	0,36*	0,29*	-											0,47 (0,361-0,589)
SCA	0,27*	0,31*	0,15*	-										0,40 (0,292-0,501)
CLA	0,79*	0,76*	0,72*	0,62*	-									0,55 (0,440-0,671)
DUN	0,29*	0,21*	0,27*	0,23*	0,48*	-								0,39 (0,292-0,490)
RET	0,39*	0,27*	0,33*	0,28*	0,68*	0,13*	-							0,39 (0,288-0,493)
RQS	0,39*	0,36*	0,37*	0,22*	0,50*	0,17*	0,15*	-						0,25 (0,178-0,334)
LLC	0,41*	0,37*	0,40*	0,26*	0,48*	0,18*	0,16*	0,04	-					0,21 (0,143-0,285)
ALG	0,49*	0,50*	0,46*	0,33*	0,50*	0,33*	0,36*	0,15*	0,21*	-				0,22 (0,151-0,290)
SG	0,52*	0,56*	0,51*	0,45*	0,52*	0,41*	0,47*	0,39*	0,37*	0,31*	-			0,27 (0,185-0,348)
MHO	0,50*	0,54*	0,45*	0,36*	0,46*	0,35*	0,39*	0,28*	0,25*	0,14*	0,17*	-		0,22 (0,146-0,298)
PCO	0,50*	0,54*	0,41*	0,34*	0,43*	0,41*	0,44*	0,31*	0,34*	0,15*	0,31*	0,16*	-	0,28 (0,204-0,360)

Junto con las comparaciones R_{ST} , la diferenciación entre los sitios de muestreo se relacionó en cierta medida con un patrón regional, por el cual no se puede descartar el efecto histórico de las diferentes barreras (naturales y antrópicas).

El análisis Bayesiano utilizando STRUCTURE identificó claramente subestructuración poblacional dentro del área de muestreo; el logaritmo de la probabilidad de los datos [LnP (D)] en función del número de agrupamientos genéticos K alcanzó un pico para K = 11 (Anexo 6), aunque el valor Δk más alto se obtuvo para K = 2 utilizando el método de Evanno (Anexo 6). Para K = 2 y K = 11, todas las corridas produjeron soluciones de agrupamiento idénticas con valores similares de pertenencia (Q) para todos los individuos. Los resultados de STRUCTURE revelaron, para ambas soluciones de agrupamiento, una estructura poblacional fuerte: el 100% y el 93,3% de los individuos, para K = 2 y K = 11 respectivamente, fueron asignados a la localidad en la que se tomaron las muestras. Por lo tanto, se consideran estos dos posibles niveles de agrupamiento como los escenarios más probables de subdivisión poblacional. Bajo la hipótesis de K = 2, se definieron como dos grupos las poblaciones del noreste y las del suroeste, lo que indicaría una diferenciación importante a ambos lados del río Quequén Salado (Fig. 2a). Para K = 11, casi todos los sitios de muestreo constituyeron grupos genéticos independientes, excepto los pares NC1-NC2 y LLC-RQS (Fig. 2b). Este resultado está fuertemente respaldado por aquellos obtenidos a partir de los análisis de las estimaciones pareadas de R_{ST} y las tasas de migración. Debe destacarse que NC1 y NC2 (distanciados por 12,5 km) ubicados en el extremo noreste del rango de distribución de la especie, posiblemente mantengan niveles importantes de flujo genético histórico. La misma situación se daría también para LLC y RQS (distanciados por 13 km), que mantuvieron altos niveles de admixión constituyendo un único grupo genético (Fig. 2b).

Hubo 13 individuos que no fueron asignados a ningún grupo genético teniendo en cuenta el valor umbral de $Q > 0,7$; dos de estos eran de LLC, dos de ALG y nueve de MHO. Estos 13 individuos no pertenecieron a ninguno de los 11 grupos según la prueba de exclusión de GENECLASS y, en consecuencia, se los consideró migrantes provenientes de poblaciones no muestreadas.

Table 3. Análisis jerárquico de la varianza molecular (AMOVA) usando la suma de las diferencias de cuadrados de las estimaciones de R_{ST} para los datos de microsatélites (Slatkin 1995).

Fuente de variación	Nivel de subdivisión	Φ_{CT}	<i>P</i>	Φ_{ST}	<i>P</i>
Dos regiones limitadas por el Río Quequén Salado	[NC1-NC2-LAng-SCA-CLA-DUN-RET][RQS-LLC-ALG-SG-MHO-PCO]	0,15	<0,01	0,42	<0,001
Tres regiones limitadas por el Río Quequén Salado y el Arroyo Sauce Grande	[NC1-NC2-LAng-SCA-CLA-DUN-RET][RQS-LLC-ALG][SG-MHO-PCO]	0,20	<0,001	0,42	<0,001
Tres regiones limitadas por el Río Quequén Salado y el Arroyo Cristiano Muerto	[NC1-NC2-LAng-SCA][CLA-DUN-RET][RQS-LLC-ALG-SG-MHO-PCO]	0,15	<0,01	0,41	<0,001
Tres regiones limitadas por el Río Quequén Salado y el Arroyo Claromecó	[NC1-NC2-LAng-SCA-CLA][DUN-RET][RQS-LLC-ALG-SG-MHO-PCO]	0,11	<0,05	0,40	<0,001
Cuatro regiones limitadas por el Río Quequén Salado, Arroyo Sauce Grande y el Arroyo Cristiano Muerto	[NC1-NC2-LAng-SCA][CLA-DUN-RET][RQS-LLC-ALG][SG-MHO-PCO]	0,20	<0,001	0,40	<0,001
Cinco regiones limitadas por el Río Quequén Salado, Arroyo Sauce Grande, Arroyo Cristiano Muerto y el Arroyo Claromecó	[NC1-NC2-LAng-SCA][CLA][DUN-RET][RQS-LLC-ALG][SG-MHO-PCO]	0,25	<0,001	0,40	<0,001
Siete regiones limitadas por el Río Quequén Salado, Arroyo Sauce Grande, Arroyo Cristiano Muerto, Arroyo Claromecó y las urbanizaciones (Necochea, Claromecó y Monte Hermoso)	[NC1][NC2-LAng-SCA][CLA][DUN-RET][RQS-LLC-ALG][SG-MHO-PCO]	0,27	<0,001	0,40	<0,001
Ocho regiones limitadas por el Río Quequén Salado, Arroyo Sauce Grande, Arroyo Cristiano Muerto, Arroyo Claromecó, delta del Arroyo Los Gauchos y las urbanizaciones (Necochea, Claromecó y Monte Hermoso)	[NC1][NC2-LAng-SCA][CLA][DUN-RET][RQS-LLC][ALG][SG-MHO-PCO]	0,29	<0,001	0,39	<0,001
Sin agrupamientos de los sitios de muestreo	[NC1][NC2][LAng][SCA][CLA][DUN][RET][RQS][LLC][ALG][SG-MHO][PCO]			0,38	<0,001

Los niveles respectivos de subdivisión se muestran entre corchetes. Las abreviaturas para los sitios de muestreo se definen en la figura 1.

La distribución de frecuencias de los valores de F en el noreste de la barrera (de NC1 a RET) presentó valores medios más altos que las localidades del suroeste (de RQS a PCO; Anexo 7). Estos resultados indicaron que los sitios de muestreo del noreste han sufrido un efecto más fuerte de deriva génica que los sitios de muestreo del suroeste. En coincidencia con los valores locales de F_{ST} obtenidos con GESTE, los sitios de muestreo del suroeste mostraron valores medios más bajos de F , denotando mayores niveles históricos de flujo génico entre ellos.

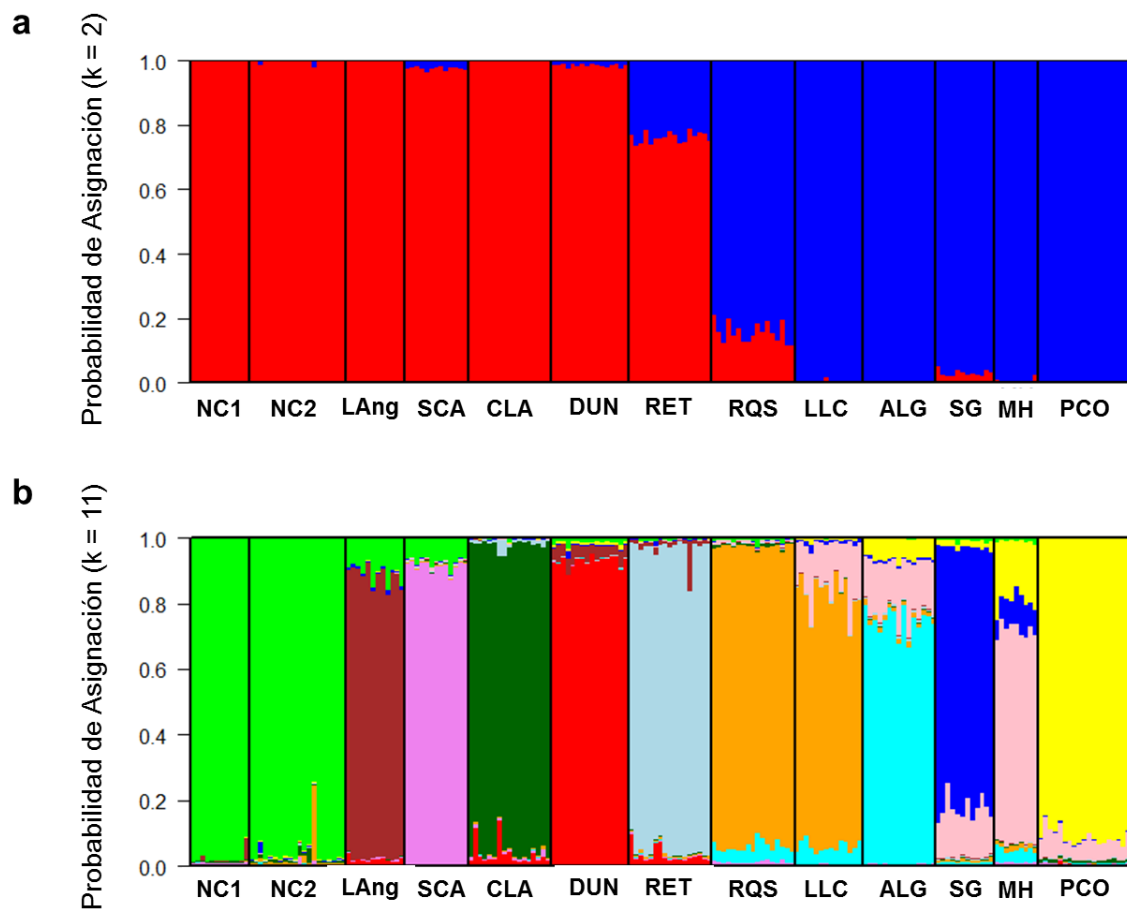


Figura 2. Probabilidades de asignación (Q) para los diferentes grupos genéticos identificados por STRUCTURE considerando ambas hipótesis de K , $K = 2$ (a) y $K = 11$ (b). Cada individuo está representado por una barra vertical y cada sitio de muestreo está etiquetado como en la figura 1, separado por líneas negras.

El resultado obtenido con MaxEnt mostró un muy buen desempeño (ver Anexo 8). A partir de un modelo lineal generalizado (MLG) implementado en GESTE, evaluamos la asociación entre la estructura poblacional (F_{ST} local) y los factores que denotan 1) la posición geográfica de los sitios de muestreo y 2) las variables descriptivas del paisaje. Los modelos que consideraron los factores -Longitud geográfica- y -Ancho de la Barrera Austral- fueron los que mejor explicaron la estructura poblacional de *C. australis*. Las probabilidades posteriores de estos factores fueron más altas que las obtenidas por el modelo nulo (para más detalles sobre el resultado de este análisis consulte el Anexo 8). Los valores de aquellos factores que tuvieron un efecto significativo en la estructura genética poblacional se detallan en Anexo 9.

Las variables -Longitud Geográfica- y -Ancho de la Barrera Austral- (G1 y G2 respectivamente, Anexo 9) se correlacionaron significativamente con los F_{ST} locales (G1: $R = 0,83$, $P < 0,001$; G2: $R = -0,83$, $P < 0,001$, Fig. 4). Estos resultados indican que el grado de aislamiento poblacional depende, en parte, de la ubicación geográfica de los sitios de muestreo: las poblaciones del noreste presentaron un mayor grado de aislamiento poblacional (los valores más altos de F_{ST}).

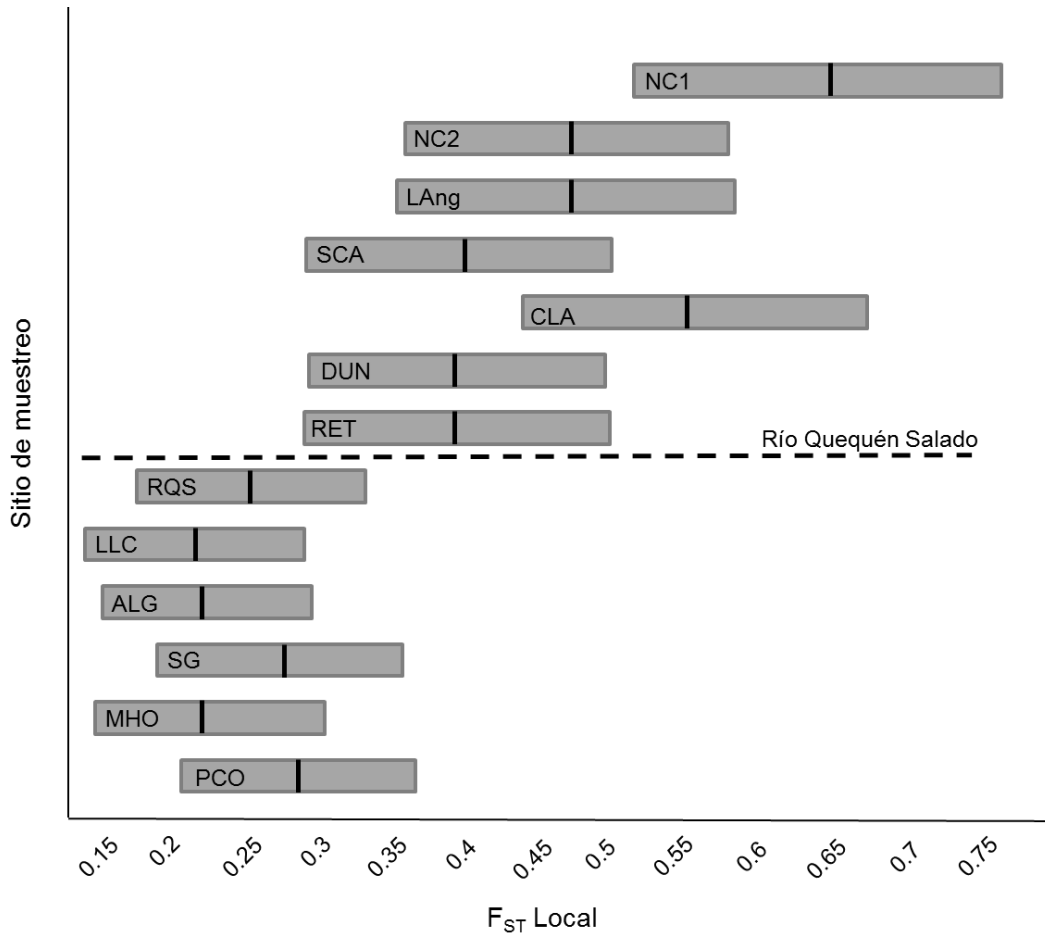


Figura 3. Se muestran los valores de F_{ST} locales (línea negra) y su correspondiente intervalo de confianza del 95% calculado con GESTE (Foll y Gaggiotti 2006). La línea punteada en la figura indica la presencia del Río Quequén Salado.

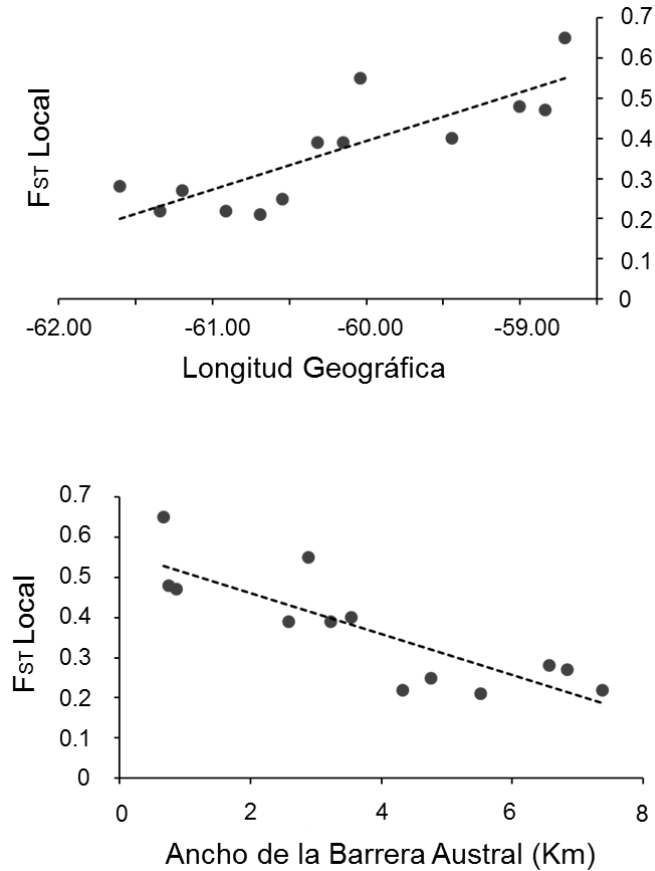


Figura 4. Se muestra la relación entre los F_{ST} locales en relación con la Longitud geográfica y el Ancho de la Barrera Austral.

Patrón de aislamiento por distancia

De acuerdo con los resultados de STRUCTURE, se identificaron 11 unidades genéticas a partir de los 13 sitios de muestreo originales (Fig. 2b). Los resultados de BAYESASS también respaldan la hipótesis de 11 unidades genéticas, mostrando un mayor grado de flujo génico entre los dos pares de sitios de muestreo que STRUCTURE reconoce como poblaciones (ver más abajo los resultados de BAYESASS). Por lo tanto, el test de Mantel se realizó considerando 11 poblaciones (unidades genéticas). Los resultados del mismo mostraron una asociación significativa entre las estimaciones pareadas de R_{ST} y las distancias geográficas lineales entre las poblaciones ($R = 0,47$, $P < 0,01$; Fig. 5). De este modo, la diferenciación genética en *C. australis* es consistente con un patrón de aislamiento por distancia, sugiriendo equilibrio entre deriva génica y flujo génico. Los resultados de 2MOD coincidieron con los del test de Mantel; el modelo que

mejor se ajustó a los datos fue el que consideró un equilibrio deriva-migración. Estos resultados apoyan un marco demográfico en el que las poblaciones han evolucionado históricamente en un contexto de migración-deriva, descartando el modelo de deriva génica como único factor involucrado.

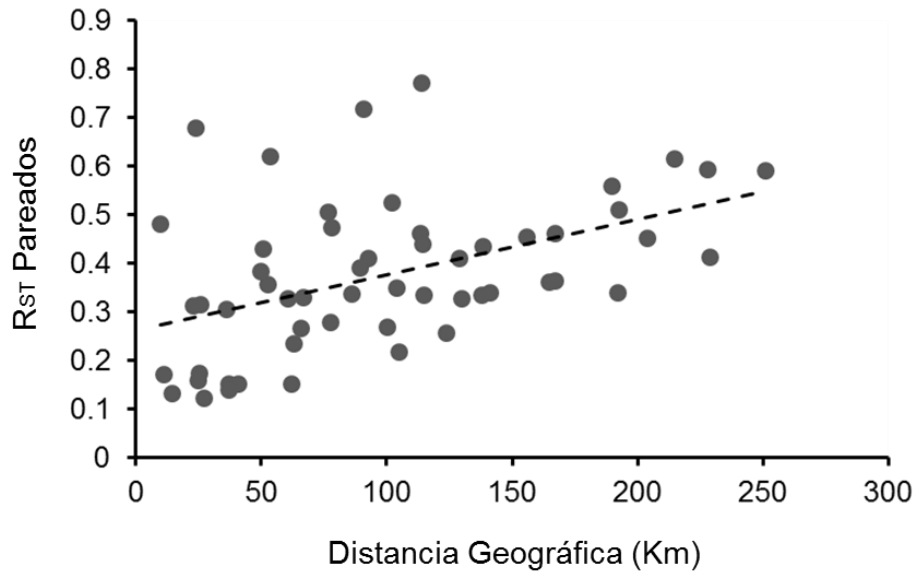


Figura 5. Se muestra la relación entre las distancias geográficas pareadas y la diferenciación genética entre poblaciones medida a partir de las estimaciones de R_{ST} pareados.

Tasas de migración históricas y contemporáneas

En general, las estimaciones recientes de flujo génico obtenidas a partir de BAYESASS fueron muy bajas, mostrando un patrón simétrico entre pares de sitios de muestreo. Las estimaciones de flujo génico variaron entre 0,009 y 0,213. Un único caso registró una tasa de migración superior a 0,2 (sugerida como valor de migración significativo por Bergek y Björklund 2007; ver también Björklund et al. 2010) con un notable patrón asimétrico de flujo génico. Tal es el caso de NC1 y NC2, donde se observa una mayor proporción de migrantes por generación dirigida desde NC1 a NC2 ($m = 0,213$). Otros dos casos mostraron valores relativamente cercanos al valor umbral de 0,2; entre LLC y RQS, donde LLC fue el sitio de muestreo que recibió una mayor proporción de migrantes provenientes de RQS ($m = 0,175$), y entre MHO y ALG, donde MHO fue la localidad que recibió una mayor proporción de migrantes provenientes de ALG ($m =$

0,093). El resto de las comparaciones de tasas de migración pareadas entre sitios de muestreo fueron insignificantes (los valores variaron de 0,009 a 0,02, ver Tabla 4).

Las estimaciones de M obtenidas a partir de MIGRATE también sugirieron escasa migración entre la mayoría de los sitios de muestreo; solo unos pocos sitios de muestreo registraron tasas de migración moderadas a altas. Las estimaciones del flujo génico variaron de 1,59 a 26,2 (Tabla 4). Se calculó el número de migrantes por generación (Nm) mediante la fórmula $Nm = (M\theta)/4$. Muchos de estos valores resultaron ser menores a uno, indicando baja migración histórica entre los sitios de muestreo; otros valores fueron mayores a uno, sugiriendo así una mayor conectividad entre algunos sitios de muestreo, hace cientos de años atrás. El par NC1-NC2 mostró el mismo patrón de migración asimétrica, histórica y contemporánea: NC1 presentó una mayor tasa de migración hacia NC2 que viceversa. Otro caso interesante que registró migración asimétrica es el de CLA, una población que presentó una diversidad genética muy baja. Esta población presentó un bajo reclutamiento de migrantes provenientes de las poblaciones vecinas (SCA y DUN); sin embargo, representa una población fuente para esas mismas poblaciones (Tabla 4). El resultado del test de correlación de Pearson fue significativo ($P < 0,01$, $r = 0,58$), indicando que las dos matrices de valores de migración (contemporánea e histórica) están significativamente correlacionadas entre sí.

Considerando aquellos 13 individuos que no fueron asignados a ningún grupo genético con STRUCTURE, el análisis de Migrantes de Primera Generación con GENECLASS (Tabla 5) identificó solo a un individuo de los 13 como migrante de primera generación, mientras que BAYESASS identificó a 11 de ellos como tales. Estos resultados respaldan un cierto grado de movimiento genético en un período de tiempo muy limitado.

Table 4. Estimaciones de las tasas de migración asimétricas, históricas y contemporáneas, entre los sitios de muestreo vecinos de *Ctenomys australis*. M = tasa de migración histórica escalada por mutación (m/μ); N_m = número histórico de migrantes por generación ($\theta M/4$); MIGRATE $m = (M*0,0005)$; BAYESASS $m =$ tasa de migración contemporánea.

Parámetro	M	N_m	MIGRATE m	95 % intervalo de confianza	BAYESASS m	95 % intervalo de confianza
NC2→NC1	11,65	1,91	0,0058	0,0031-0,0084	0,0134	0,2663-0,1601
NC1→NC2	26,20	4,30	0,0131	0,0087-0,0193	0,2132	0,0385-0,0117
LAng→NC2	11,31	1,86	0,0057	0,0029-0,0085	0,0101	0,0293-0,0091
NC2→LAng	6,15	1,01	0,0031	0,0006-0,0055	0,0133	0,0386-0,0120
SCA→LAng	2,43	0,40	0,0012	0,0000-0,0032	0,0134	0,0387-0,0119
LAng→SCA	1,59	0,26	0,0008	0,0000-0,0025	0,0128	0,0365-0,0109
CLA→SCA	11,24	1,85	0,0056	0,0029-0,0083	0,0132	0,0381-0,0117
SCA→CLA	2,44	0,40	0,0012	0,0000-0,0029	0,0111	0,0321-0,0099
DUN→CLA	2,37	0,39	0,0012	0,0000-0,0029	0,0114	0,0330-0,0102
CLA→DUN	13,76	2,26	0,0069	0,0039-0,0098	0,0120	0,0345-0,0105
RET→DUN	12,86	2,11	0,0064	0,0029-0,0098	0,0215	0,0525-0,0095
DUN→RET	12,53	2,06	0,0063	0,0035-0,0090	0,0183	0,0502-0,0136
RQS→RET	1,99	0,33	0,0010	0,0000-0,0027	0,0119	0,0346-0,0108
RET→RQS	4,98	0,82	0,0025	0,0005-0,0045	0,0207	0,0538-0,0124
LLC→RQS	2,23	0,37	0,0011	0,0000-0,0029	0,0110	0,0320-0,0100
RQS→LLC	9,27	1,52	0,0046	0,0008-0,0092	0,1755	0,2392-0,1118
ALG→LLC	4,99	0,82	0,0025	0,0003-0,0045	0,0124	0,0357-0,0109
LLC→ALG	4,86	0,80	0,0024	0,0000-0,0050	0,0118	0,0339-0,0103
SG→ALG	3,34	0,55	0,0017	0,0000-0,0034	0,0123	0,0354-0,0108
ALG→SG	9,61	1,58	0,0048	0,0015-0,0080	0,0185	0,0532-0,0162
MH→SG	3,08	0,51	0,0015	0,0000-0,0033	0,0171	0,0502-0,0160
SG→MH	15,05	2,47	0,0075	0,0039-0,0115	0,0183	0,0520-0,0154
PCO→MH	8,10	1,33	0,0040	0,0006-0,0085	0,0183	0,0532-0,0166
MH→PCO	5,20	0,85	0,0026	0,0000-0,0053	0,0129	0,0376-0,0118

Tabla 5. Migrantes de primera generación detectados por GENECLASS y BAYESASS, indicando las poblaciones fuente y sumideros.

Individuo	GENECLASS	Población fuente	BAYESASS	Población fuente
LLC n° 128	P = 0	PCO	P=0,825	PCO
LLC n° 136	-	-	P=0,995	RQS
MHO n° 166	-	-	P=0,998	ALG
MHO n° 167	-	-	P=1	ALG
MHO n° 168	-	-	P=1	ALG
MHO n° 169	-	-	P=1	ALG
MHO n° 170	-	-	P=1	ALG
MHO n° 171	-	-	P=0,717	ALG
MHO n° 172	-	-	P=0,967	ALG
MHO n° 173	-	-	P=0,982	ALG
MHO n° 174	-	-	P=0,967	ALG

Para GENECLASS, solo se muestra el valor de P que no excedió el umbral de 0,01 sugerido por Paetkau et al. (2004); para BAYESASS, solo se muestran los valores P más altos, lo que indica la mayor probabilidad de ser un migrante de primera generación de una determinada población de origen.

Dispersión sesgada al sexo

A partir de los porcentajes de ancestría de cada individuo (Q) estimados por STRUCTURE se realizaron inferencias sobre el patrón de dispersión para cada sexo. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre sexos (Q medio para hembras = 0,86, Q medio para machos = 0,88, t test = 0,709, P = 0,48), sugiriendo así la falta de dispersión sesgada al sexo, al menos para la escala global en que se han hecho los muestreos en este trabajo.

Por otro lado, a nivel global solo se observó diferencia significativa en el índice H_o (H_o para hembras: 0,441, H_o para machos: 0,483, $P = 0,004$), el cual muestra diferencias en los niveles de heterocigosidad entre machos y hembras, y en última instancia sugiere un patrón de dispersión sesgado hacia los machos. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ni en la media del índice de asignación corregido (mAlc) ni en la varianza de Alc (vAlc) entre sexos (mAlc para hembras: -0,045, mAlc para machos: 0,079, $P = 0,61$; vAlc para hembras: 9,776, vAlc para machos: 10,206, $P = 0,47$),

sugiriendo que la interpretación conjunta de los datos a partir de estos 3 índices debería ser tomada con precaución.

Los índices F_{IS} y F_{ST} tampoco presentaron diferencias estadísticamente significativas a escala global (F_{IS} para hembras: 0,103, F_{IS} para machos: 0,020, $P = 0,99$; F_{ST} para hembras: 0,326, F_{ST} para machos: 0,322, $P = 0,33$). En general, gran parte de los resultados concuerdan en que no habría dispersión sesgada al sexo a escala global (aunque además del H_0 , el F_{IS} muestre una tendencia a que las hembras sean más endogámicas que los machos). Pero dado que uno de los índices pudo detectar dispersión sesgada hacia los machos (H_0), se puede suponer que la escala, y por ende las distancias a las que se encuentran muestreadas las localidades, jugarían un papel primordial a la hora de identificar un patrón de dispersión.

Discusión

Ctenomys australis presentó una fuerte estructuración genética en su rango completo de distribución, con un bajo flujo génico histórico entre los diferentes sitios de muestreo (10-40 km de distancia entre ellos). Una conjunción de elementos tales como las distancias geográficas entre las poblaciones y las barreras más importantes para el flujo génico, parecen explicar en cierta medida la diferenciación genética en esta especie. Como era de esperarse, los ríos y arroyos parecen haber actuado como barreras significativas en el paisaje, limitando el movimiento de individuos entre diferentes poblaciones. Además, se encontró que, a excepción del caso de NC1 y NC2, el resto de los sitios de muestreo en el noreste del rango geográfico de la especie presentaron un mayor aislamiento entre sí en relación con las poblaciones del área del sudoeste. En este contexto, se observó un patrón de aislamiento por distancia, lo que sugiere equilibrio entre flujo génico y deriva génica. También se encontró que algunas variables ambientales y cartográficas influyeron en la estructuración poblacional de la especie. La ubicación geográfica de los sitios de muestreo (descrita por la Longitud Geográfica) y la disponibilidad del hábitat adecuado (descrita por el Ancho de la Barrera Austral) han afectado el patrón de diferenciación poblacional, registrándose una clara tendencia suroeste/noreste. En particular, la disponibilidad de hábitat adecuado en esta especie está directamente relacionada con el ancho de la Barrera Austral, que determina la conectividad entre los sitios de muestreo y los tamaños efectivos poblacionales. Cabe señalar que el rango de distribución de *C. australis* en el noreste del río Quequén Salado es más estrecho que en el suroeste.

Los roedores subterráneos tienden a presentar una marcada estructura genética como consecuencia de su baja movilidad y sus distribuciones fragmentadas (Wlasiuk et al. 2003; Mora et al. 2006, 2007; Mapelli et al. 2012a; Mora et al. 2016). En *C. australis*, la conectividad entre las poblaciones se vio limitada por su distribución lineal sobre la costa, algunas barreras naturales importantes y por la fragmentación del hábitat (Mora et al. 2006, 2010; Mora y Mapelli 2010; ver Capítulo I).

Apfelbaum et al. (1991) encontraron, usando loci de aloenzima, altos niveles de homocigosidad dentro de las poblaciones de *C. australis* y una importante diferenciación genética entre los sitios de muestreo, sugiriendo que esta especie presenta altos niveles de aislamiento y bajos tamaños efectivos poblacionales. Además, Mora et al. (2010), usando loci de microsatélites, observaron una diferenciación genética significativa en *C. australis* a una escala espacial muy baja (<4 km). A pesar de la escala reducida en la que se realizó este último estudio, los autores concluyeron que la configuración del paisaje (por ejemplo, la disponibilidad del hábitat) y los requisitos específicos de hábitat de la especie, habrían moldeado la variación genética a esta escala espacial reducida. En el presente estudio se encontró que la variabilidad genética en *C. australis*, como el número medio de alelos por locus, el número de alelos por población y los niveles de heterocigosidad, fue similar o ligeramente superior a la reportada en otras especies de tuco-tucos como *Ctenomys flamarioni* (Fernández-Stolz et al. 2007), *Ctenomys rionegrensis* (Wlasiuk et al. 2003), *Ctenomys torquatus* (Gonçalves y de Freitas 2009) y *Ctenomys talarum* (Cutrera et al. 2010). Teniendo en cuenta estas observaciones, las poblaciones de *C. australis* mostraron, en general, niveles aceptables de diversidad genética. Además, se observó que los altos niveles de subdivisión poblacional coinciden con los reportados en otros estudios de *Ctenomys*. Roratto et al. (2014) encontraron altos valores de estimaciones pareadas de F_{ST} entre poblaciones de *C. torquatus*, una especie que presenta una extensión geográfica similar a *C. australis*, restringida a las tierras bajas del sur de Brasil y el norte de Uruguay. Mapelli et al. (2012a) evaluaron la estructura genética de *Ctenomys porteousi* en su rango de distribución estrecho (no lineal) en el centro de Argentina (alrededor de 90 km), y reportaron una fuerte estructura poblacional con estimaciones pareadas de F_{ST} similares a las observadas en *C. australis*. Fernández-Stolz et al. (2007) informaron una diferenciación población moderada a alta en *C. flamarioni*, a una escala espacial baja (alrededor de 30 km); esta especie presenta una distribución restringida a las dunas costeras del sur de Brasil, y al igual que *C. australis*, exhibe una distribución lineal y continua sobre un paisaje fragmentado. Muchos de estos

ejemplos en *Ctenomys*, con distribuciones restringidas, fragmentadas y relativamente lineales, respaldan la idea de una estructura poblacional fuerte, incluso a escalas espaciales muy pequeñas.

En este estudio, se observó un patrón diferencial en la estructuración poblacional en ambos sectores de la barrera de dunas. Por un lado, los sitios de muestreo del noreste mostraron una diversidad genética más baja, con valores medios de diversidad alélica y heterocigosidad relativamente más bajos en comparación con los sitios de muestreo del sector suroeste. Estos resultados concuerdan con los publicados por Apfelbaum et al. (1991), donde los autores informaron bajos niveles de diversidad genética en la localidad de Necochea y un patrón decreciente de diversidad alélica de oeste a este. Además, la distribución de frecuencias de los valores de F realizadas con 2MOD concuerdan con el patrón genético mencionado anteriormente, mostrando los valores medios más bajos hacia el suroeste. Estos resultados denotan una mayor conectividad entre las poblaciones de este sector y, por lo tanto, un menor grado de diferenciación poblacional. Por otro lado, el sector noreste mostró una distribución de frecuencia de los valores de F desplazados principalmente hacia la derecha, lo que denota una baja conectividad histórica entre las poblaciones y una importante deriva genética local; esto explicaría la fuerte diferenciación poblacional observada en esta área.

La diferenciación genética entre las poblaciones de *C. australis* fue consistente con un PAD, evidenciando la existencia de equilibrio entre flujo génico y deriva génica local. El test de Mantel y los resultados de 2MOD respaldaron esta conclusión. Además, se observó una gran diferenciación entre las poblaciones sin agruparlas en regiones o unidades jerárquicas principales. Las barreras naturales y antrópicas (como los ríos, arroyos y urbanizaciones) explicaron un alto porcentaje de la variación entre las poblaciones, lo que demuestra que las bajas tasas de dispersión y la alta especialización del hábitat juegan un papel preponderante en dicha diferenciación poblacional. La distribución lineal y unidimensional que presenta *C. australis* sobre la costa, favorecería el establecimiento del PAD, ya que sus poblaciones alcanzarían el equilibrio deriva-migración más rápidamente que aquellas especies con distribuciones bidimensionales (Slatkin 1993). Al igual que *C. australis*, varias especies de *Ctenomys* con distribuciones relativamente lineales han reportado un PAD utilizando datos de microsatélites (*C. talarum*, por Mora et al. 2007, 2013; *C. flamarioni*, por Fernández-Stolz et al. 2007; *C. pearsoni*, de Tomasco y Lessa 2007; *C. minutus*, de Lopes 2011; *C. "chasiquensis"*, de Mora et al. 2016). Una distribución estrecha, como la presentada por estas especies,

restringe su potencial de dispersión en pocas direcciones, priorizando el movimiento de los individuos entre las poblaciones vecinas.

El PAD observado en este estudio difiere de los resultados reportados por Mora et al. (2006) utilizando secuencias mitocondriales. Estos autores propusieron que la especie no habría alcanzado el equilibrio entre migración y deriva génica (ver también Wlasiuk et al. 2003); los mismos sugirieron que *C. australis* sufrió un proceso reciente de expansión demográfica, asociado probablemente con los ciclos de formación de las dunas costeras durante el Holoceno. Probablemente, estos resultados contrastantes se deban a las diferencias en los marcadores moleculares utilizados en estos estudios, dado que los mismos presentan tasas de mutación distintas, con diferente acumulación de polimorfismos en las poblaciones naturales. Si bien ambos marcadores permiten inferir el flujo génico entre poblaciones, estos los hacen a distintas ventanas temporales. El ADN mitocondrial, usado principalmente para inferir flujo génico histórico, no alcanza el equilibrio tan rápidamente como sí lo hacen los microsatélites. Es por esto que los loci de microsatélites son usados para estimar flujo génico contemporáneo, ya que lograron acumular una cantidad suficiente de polimorfismos presentes en las poblaciones (Dionne et al. 2008). Así, las diferentes tasas de mutación de los loci mitocondriales y de microsatélites (asociadas con su acumulación de nueva fuente de variación) pueden aumentar o reducir las estimaciones de flujo génico, teniendo un impacto en el ajuste del PAD.

La mayoría de los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con 11 unidades genéticas, donde la mayoría de los individuos fueron asignados a sus sitios de muestreo originales. Los AMOVAs apoyan parcialmente la hipótesis de $K = 2$, ya que el río Quequén Salado parece explicar al menos el 15% de la variación total entre poblaciones. La hipótesis de $K = 11$ fue apoyada por los R_{ST} pareados y por la reconstrucción filogenética de las distancias genéticas, mostrando una diferenciación genética importante entre los sitios de muestreo. Además, BAYESASS reportó bajas tasas de migración entre los sitios de muestreo, excepto para los pares NC1-NC2 y RQS-LLC, sugiriendo así la presencia de varios grupos genéticos independientes.

Varios estudios han discutido sobre la dificultad de encontrar el número más probable de grupos genéticos (K) a partir de una disposición de unidades de muestreo (ver Meirmans 2015 para una discusión detallada de este tema). Este autor señala que la estructura genética que presenta una especie en la actualidad es el resultado de los procesos demográficos, ambientales e históricos subyacentes. Más allá de las inferencias

sobre el número más probable de grupos genéticos (K) utilizando el método de Evanno (Evanno et al. 2005), Meirmans (2015) observó que, debido a la gran incertidumbre en la estimación de K, es común en algunos casos, presumir más de un valor. Este autor enfatiza la idea de que diferentes soluciones de grupos genéticos K podrían reflejar básicamente diferentes procesos demográficos y, en consecuencia, justificar nuestra interpretación final de los datos. Utilizando datos genéticos humanos, Kalinowski (2011) también sugiere que STRUCTURE no identifica de manera tan confiable los principales grupos genéticos dentro de las especies. Este autor señaló que alguna de las dificultades que presenta STRUCTURE se debe a forzar al programa a ubicar los individuos en muy pocos grupos.

Para nuestro conjunto de datos ΔK arrojó un óptimo de dos grupos genéticos, lo que significa que la mayor parte de la diferencia genética se explica por la presencia de dos grupos, con el río Quequén Salado posicionado como la barrera histórica más importante para el flujo génico. El valor de $K = 11$ también resultó ser muy informativo respecto la estructura poblacional actual. Los análisis bayesianos de STRUCTURE mostraron claramente que la mayoría de los sitios de muestreo se comportaron como unidades genéticas independientes.

Otra cuestión interesante es dilucidar hasta qué punto la diferenciación poblacional en *C. australis* puede explicarse por las características históricas del paisaje, como las barreras naturales a la dispersión, o por los factores ambientales contemporáneos. Los valores locales de F_{ST} se correlacionaron significativamente con dos factores del paisaje: la Longitud geográfica y el Ancho de la Barrera Austral. Los valores locales de F_{ST} más bajos se encontraron en el sector más ancho la barrera de dunas, hacia el suroeste, mientras que los valores más altos se encontraron en el noreste, donde la barrera es más estrecha. Por lo tanto, aquellos factores relacionados con la posición geográfica de los sitios de muestreo y la disponibilidad del hábitat, influyen en los niveles de aislamiento de las poblaciones. Estas variables se encuentran asociadas con la disponibilidad de hábitat natural, el cual, debido a factores naturales y antrópicos, es menos abundante y continuo al noreste de la barrera de dunas (Turno Orellano et al. 2003; Isla et al. 2009). En el sector suroeste de la costa hay mayor disponibilidad de hábitats naturales, los cuales se distribuyen de manera más continua y son naturalmente más estables desde la última generación de formación de dunas costeras (1.600-500 años; ver Isla et al. 2001; Marcomini y López 2016). Estas particularidades en el paisaje que caracterizan el sector suroeste de la barrera, posiblemente han permitido una dispersión histórica más fluida

entre las poblaciones de *C. australis* que en el sector noreste. Dado que la presencia de *C. australis* depende en gran medida de la disponibilidad de hábitat adecuado de dunas de arena (Mora et al. 2006; Mora y Mapelli 2010; Cutrera y Mora 2017), se espera que el efecto demográfico sea más fuerte en aquellas poblaciones ubicadas en el noreste. De hecho, se ha observado que en varias especies de roedores subterráneos el tamaño de la población está fuertemente correlacionado con la disponibilidad del hábitat (ver Mapelli y Kittlein 2009; Mapelli et al. 2012a). Cabe señalar que, otras especies de roedores subterráneos con distribuciones similares a *C. australis*, o incluso con escalas espaciales más pequeñas, también han revelado la importancia de las características del paisaje, como la disponibilidad del hábitat (Sato et al. 2014; Kierepka et al. 2016; Biello et al. 2018; Visser et al. 2018). Nuestros resultados coincidieron con los publicados por Galiano et al. (2014a) en *C. minutus* (una especie con distribución geográfica costera lineal de 300 km en el sureste de Brasil) y Mora et al. (2017) en *C. "chasiquensis"* (con distribución de 100 km en el centro de Argentina) utilizando loci de microsatélites. Estos autores observaron que estas especies de tuco-tucos distribuidos en áreas con mayor disponibilidad de hábitat, presentaron una mayor diversidad genética. En resumen, aunque la disponibilidad de hábitat adecuado, las distancias geográficas entre los sitios de muestreo y las barreras naturales y antrópicas parecen, en conjunto, explicar la estructura genético-poblacional de la especie, es difícil evaluar de forma independiente la contribución histórica efectiva de cada uno de estos procesos.

Aunque la mayoría de los resultados sugieren tasas de migración relativamente bajas entre los sitios de muestreo, algunas localidades han mantenido ciertos niveles de flujo génico entre ellos. La reconstrucción filogenética, los valores de R_{ST} pareados y el enfoque bayesiano de agrupamientos de STRUCTURE, mostraron que algunos pares de localidades (como NC1-NC2 y RQS-LLC) se comportan como poblaciones individuales. BAYESASS y MIGRATE mostraron una alta tasa de migración por generación para estos pares de localidades, siendo NC1-NC2 el único caso que presentó la tasa de migración histórica y contemporánea más alta. En ambos casos (NC1-NC2 y RQS-LLC) se detectó flujo génico asimétrico, con direccionalidad Este-Oeste; esto indicaría que tanto NC1 como RQS funcionarían como una fuente potencial de migrantes, lo que sugiere un alto valor de conservación en relación con otras poblaciones. Esto es interesante, ya que NC1 tiene el valor de F_{ST} local más alto así como una baja diversidad genética, lo que respalda aún más la idea de un flujo génico asimétrico con NC2, siendo NC1 la localidad que proporciona migrantes pero no los recibe. Cabe señalar que m de MIGRATE mostró un

valor moderado para RQS-LLC (más bajo que el de NC1-NC2), pero resulta interesante que en el presente estén conectados por un flujo génico moderado. También merece destacarse el caso de CLA, ya que esta localidad reportó valores moderados de flujo génico en relación a sus localidades vecinas, pero con muy poco reclutamiento de migrantes provenientes de las mismas. Este resultado está respaldado por altos valores de R_{ST} pareados y F_{ST} local, y por presentar bajos valores de diversidad genética. Esta población está circunscrita por un río, una ciudad (Claromecó) y algunas forestaciones que probablemente han afectado sus niveles de flujo génico actual, lo que ha inducido un alto grado de aislamiento poblacional.

El resultado de una correlación significativa entre ambas estimaciones de m (BAYESASS y MIGRATE), podría sugerir que los altos niveles de estructura observados actualmente en *C. australis*, no se deben específicamente a la fragmentación antrópica de la barrera de dunas, sino que las característica biológica de este taxón, como su dispersión limitada, junto a su distribución lineal, podría ser los principales responsables de dicha estructuración (ver también Mora et al. 2006).

Como se observó en la Tabla 5, algunos migrantes de primera generación (pertenecientes a MHO y LLC) arribaron de poblaciones no vecinas; es decir, los individuos con un valor Q inferior a 0,7, mostraron una mayor probabilidad de ser migrantes de primera generación de las poblaciones mencionadas. Por ejemplo, el individuo n° 166 muestreado en MHO, presentó una mayor probabilidad de ser un migrante de primera generación proveniente de ALG, y no proveniente de las localidades vecinas como SG o PCO. Estos resultados tienen una implicancia importante para la conservación de esta especie amenazada. Los estudios relacionados con la direccionalidad del flujo génico, proporcionan información valiosa con respecto a la dinámica genética "sumidero-fuente" en un conjunto de poblaciones, lo cual es muy relevante para los esfuerzos de conservación (Manier y Arnold 2005).

Patrones de dispersión por sexo

Diferentes tipo de interacciones ecológicas, rasgos de historia de vida y características del paisaje constituyen un conjunto complejo de variables que interactúan entre sí para afectar los patrones de movimientos en mamíferos, y en roedores en particular (Solomon 2003; Lin et al. 2005). El resultado de dichas interacciones son las que determinan en última instancia los costos y limitantes de la dispersión. En general, se espera que los procesos de dispersión traigan aparejados una menor estructuración

genética a nivel poblacional; en el caso de la dispersión sesgada al sexo, se espera, por lo tanto, que los niveles de estructuración genética resulten ser menores en el sexo dispersante.

Los resultados obtenidos para la mayoría de las métricas analizadas en relación a la dispersión sesgada al sexo, no apoyan la presencia de dicha dispersión a nivel global. Sin embargo, se observó que los machos presentaron un mayor grado de heterocigosidad en comparación a las hembras, sugiriendo un patrón de dispersión sesgado hacia los machos. También, a pesar de que no se reportaron diferencias significativas para el F_{IS} entre ambos sexos, se observó un mayor grado de endogamia para las hembras. Esto podría interpretarse como una mayor tendencia por parte de las hembras a mantenerse filopátricas, mientras que los machos dispersan a mayores distancias. Un estudio previo llevado a cabo en *C. australis* con microsatélites y a una escala espacial pequeña (< 4 km), reportó resultados similares. En este estudio, si bien se observó que los machos de esta especie dispersan más que las hembras, no pudieron evidenciarlo para todas las métricas consideradas (Mora et al. 2010). En otros estudios en *Ctenomys* también se observó este patrón. En el tuco-tuco social *Ctenomys sociabilis* se reportó un importante nivel de filopatría por parte de las hembras pertenecientes a una misma población, compartiendo una gran proporción de su genoma (Lacey 2000). Cutrera et al. (2005) reportó para *C. talarum* la existencia de un patrón de dispersión sesgada hacia los machos, acompañado de una marcada estructura de parentesco para las hembras. Otras especies de roedores de hábitos fosoriales como de superficie, han evidenciado el mismo patrón de dispersión sesgado hacia los machos; tal es el caso de “pocket gophers” (Daly y Patton 1990; Patton y Smith 1990; Steinberg y Patton 2000), el zokor de las planicies *Eospalax fontanierii* (Zhang 2007), y el ratón común *Microtus arvalis* (Schweizer et al. 2007), entre otros.

Uno de los motivos por los cuales se observa este patrón diferencial de dispersión entre sexos, podría estar relacionado con el sistema de apareamiento de las especies. En especies poligínicas, como el caso de *C. australis*, los machos tienden a mostrar una fuerte competencia local por el acceso a las hembras reproductivas, manifestando dimorfismo sexual y alta territorialidad. En casos como éste, es esperable que ocurra dispersión sesgada a los machos (Dobson 1982; Zenuto y Busch 1998). También, y relacionado a este tipo de sistema de apareamiento característico de *C. australis*, Cutrera et al. (2010) encontraron mayores tamaños de home-range para los machos que para las hembras de esta especie, sugiriendo así movimientos más amplios para los machos;

estas diferencias presentes en los tamaños de home-range entre sexos, se verían reflejadas en las capacidades dispersivas de los mismos.

Probablemente, el hecho de que no se haya observado para todas las métricas evaluadas un patrón de dispersión diferenciado para ambos sexos, este relacionado con el bajo número de dispersantes identificados, así como la escala espacial en la cual se llevó a cabo este análisis. Sin embargo, y en base a la escasa evidencia que sugiere un patrón de dispersión sesgada hacia los machos, los resultados obtenidos fueron concordantes con los esperados para roedores subterráneos (Dobson 1982; Zenuto y Busch 1998; Lacey 2000; Cutrera et al. 2005).

Anexo 2. Descripción de la configuración de MaxEnt y las variables ambientales implementadas para realizar un modelo de distribución potencial para *C. australis*.

Se utilizaron todas las bandas de tres imágenes Landsat 8 OLI (excepto la banda ocho), las cuales se unieron para cubrir todo el área de estudio, y cuatro variables relacionadas con la granulometría del suelo; -Contenido de arena (%) -, -Contenido de arcilla (%) -, -Contenido de limo (%) - y -Contenido de carbono orgánico (gr x Kg) -, disponible en <https://soilgrids.org>. Estas últimas cuatro variables representan la granulometría del suelo a un metro de profundidad, distancia promedio a la que los individuos de esta especie construyen sus madrigueras (Luna y Antinuchi 2007). Todas las variables (las 10 bandas Landsat 8 y las cuatro variables granulométricas) cuentan con una resolución espacial de 30 m y se consideran variables continuas; fueron procesadas mediante ARCGIS 10.2.2 (ESRI 2014). Se utilizaron coordenadas geográficas de individuos capturados en distintos años, obtenidos tanto de publicaciones previas como de estudios de campo en *C. australis* (Mora et al. 2006, 2010; aproximadamente 700 puntos de datos georreferenciados); estos datos se ejecutaron en conjunto con las variables ambientales procesadas en ARCGIS, para obtener una predicción del hábitat adecuado para esta especie. Así, mediante el uso de MaxEnt, se realizaron 10 corridas independientes de 5.000 iteraciones cada una, dividiéndose aleatoriamente 10 veces un conjunto de datos de entrenamiento (75% de todo el conjunto de datos) y un conjunto de datos de prueba (el 25% restante), con niveles predeterminados de regularización. El formato de salida seleccionado fue el logístico, sobre el que finalmente se empleó un umbral logístico para convertir la predicción continua de MaxEnt (probabilidad de 0 a 1) en una capa binaria (hábitat adecuado/inadecuado). Se usó el umbral “Equal training sensitivity and specificity logistic” (Cantor et al. 1999) para clasificar las condiciones ambientales en adecuadas o inadecuadas; este criterio de umbral fue descrito como uno de los más eficientes y recomendados de usar (Liu et al. 2005).

Anexo 3. Frecuencias alélicas de los 13 loci de microsatélites por sitio de muestreo para *C. australis*. Las abreviaturas para los sitios de muestreo se definen en la Figura 1.

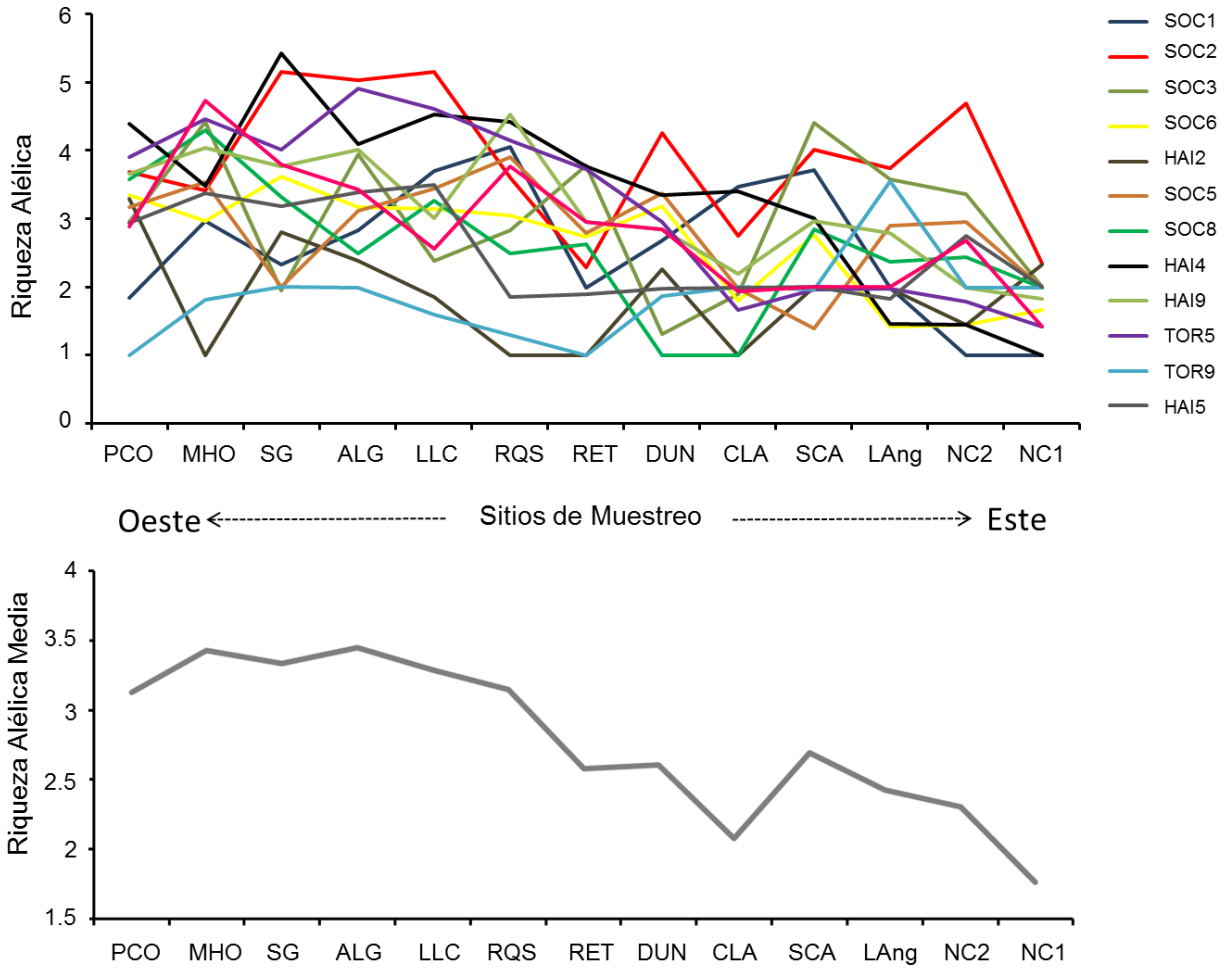
Locus/Alelos	Sitios de muestreo												
	NC1	NC2	LAng	SCA	CLA	DUN	RET	RQS	LLC	ALG	SG	MHO	PCO
SOC1													
1	0.000	0.000	0.292	0.115	0.000	0.000	0.000	0.294	0.321	0.633	0.792	0.500	0.850
2	0.000	0.000	0.000	0.192	0.353	0.000	0.000	0.176	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000
3	1.000	1.000	0.708	0.346	0.265	0.563	0.324	0.059	0.107	0.000	0.042	0.222	0.150
4	0.000	0.000	0.000	0.346	0.324	0.094	0.000	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000	0.000
5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.344	0.676	0.382	0.464	0.167	0.167	0.278	0.000
6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.088	0.036	0.000	0.000	0.000	0.000
SOC2													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.067	0.125	0.167	0.000
3	0.000	0.100	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.107	0.167	0.125	0.611	0.200
4	0.083	0.075	0.208	0.269	0.000	0.125	0.412	0.147	0.357	0.100	0.000	0.167	0.450
5	0.000	0.125	0.042	0.000	0.000	0.094	0.000	0.235	0.107	0.000	0.167	0.000	0.000
6	0.833	0.475	0.208	0.500	0.265	0.281	0.559	0.529	0.214	0.233	0.292	0.000	0.200
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067	0.000	0.056	0.000
8	0.000	0.075	0.500	0.077	0.000	0.125	0.029	0.059	0.107	0.333	0.208	0.000	0.150
9	0.000	0.025	0.000	0.000	0.618	0.000	0.000	0.029	0.036	0.000	0.083	0.000	0.000
10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.118	0.375	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
11	0.083	0.125	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
12	0.000	0.000	0.000	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
SOC3													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.133	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.067	0.000	0.056	0.000
3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.156	0.559	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.219	0.294	0.615	0.400	0.208	0.556	0.421
5	0.000	0.175	0.083	0.115	0.000	0.000	0.375	0.147	0.346	0.333	0.792	0.111	0.237
6	0.000	0.000	0.125	0.000	0.824	0.969	0.250	0.000	0.000	0.067	0.000	0.056	0.342
7	0.375	0.625	0.667	0.385	0.176	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000
8	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000

9	0.000	0.050	0.000	0.269	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
10	0.625	0.125	0.083	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
11	0.000	0.025	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
12	0.000	0.000	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
SOC6													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.029	0.000	0.214	0.033	0.375	0.278	0.200
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.033	0.208	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.000	0.042	0.154	0.059	0.031	0.206	0.706	0.643	0.067	0.000	0.000	0.000
5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
6	0.917	0.950	0.000	0.692	0.912	0.719	0.706	0.118	0.000	0.667	0.333	0.222	0.075
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025
8	0.083	0.050	0.958	0.154	0.000	0.125	0.059	0.118	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000
9	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200	0.083	0.500	0.625
10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.075
HAI2													
1	0.042	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.079
2	0.167	0.050	0.000	0.500	0.000	0.031	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026
3	0.792	0.950	0.750	0.500	1.000	0.750	1.000	1.000	0.864	0.346	0.583	0.000	0.684
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.219	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.136	0.615	0.292	1.000	0.079
6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.125	0.000	0.000
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.132
SOC5													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.265	0.107	0.633	0.500	0.389	0.725
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.000	0.056	0.050
3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025
4	0.667	0.200	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
5	0.000	0.025	0.542	0.962	0.735	0.531	0.353	0.088	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
6	0.000	0.125	0.292	0.000	0.265	0.156	0.559	0.324	0.250	0.167	0.500	0.222	0.025
7	0.333	0.650	0.167	0.000	0.000	0.250	0.000	0.029	0.000	0.167	0.000	0.000	0.000
8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.294	0.571	0.000	0.000	0.333	0.125
9	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.029	0.000	0.036	0.033	0.000	0.000	0.000
10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050
SOC8													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.167	0.425
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.036	0.000	0.375	0.056	0.050

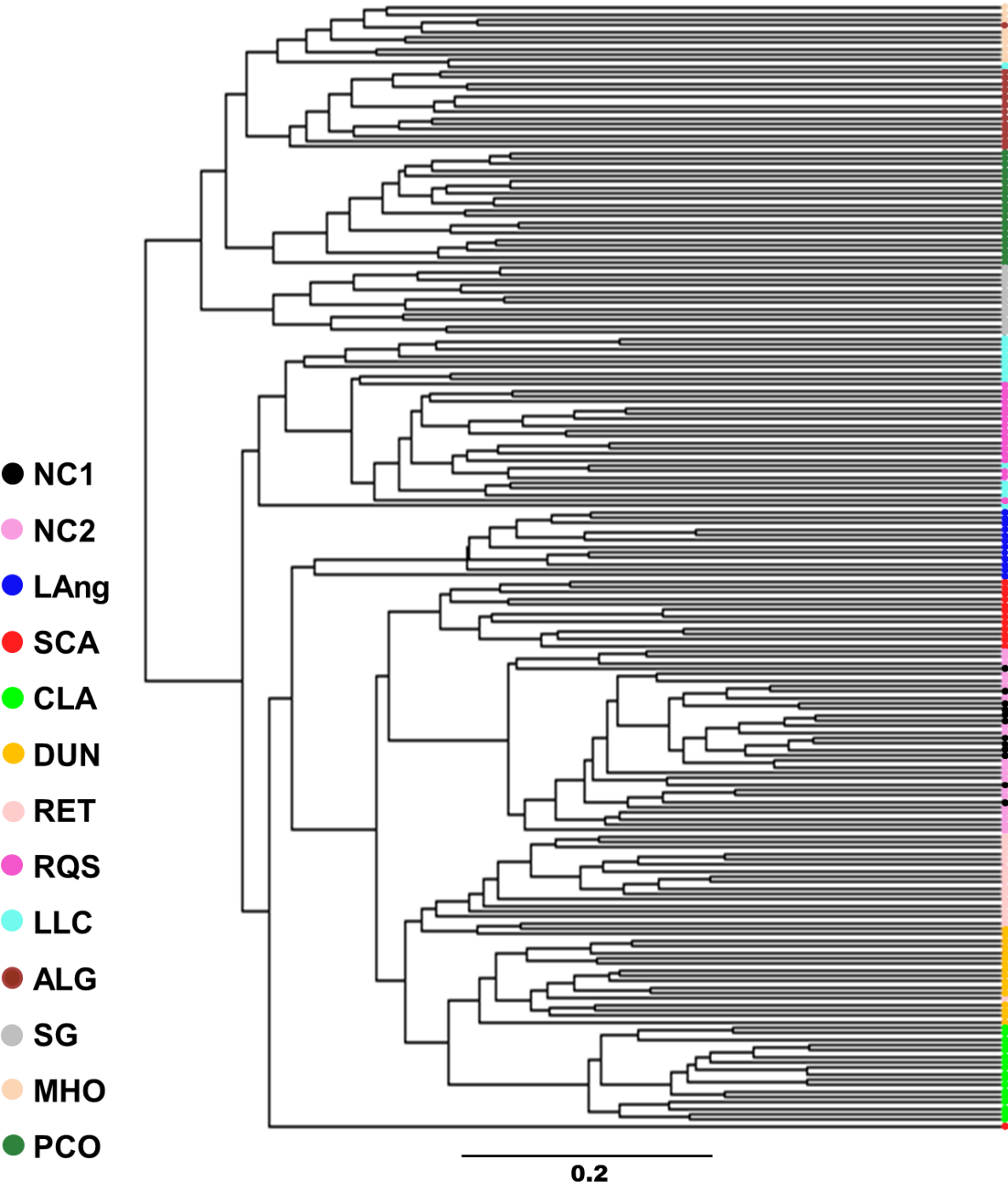
3	0.000	0.000	0.000	0.154	0.000	0.000	0.235	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.429	0.733	0.417	0.278	0.175
5	0.000	0.050	0.042	0.231	0.000	0.000	0.000	0.294	0.179	0.200	0.000	0.111	0.025
6	0.333	0.450	0.208	0.615	1.000	1.000	0.676	0.647	0.357	0.067	0.042	0.389	0.325
7	0.667	0.500	0.750	0.000	0.000	0.000	0.088	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
HAI4													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.059	0.107	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.000	0.385	0.000	0.000	0.588	0.500	0.464	0.433	0.000	0.000	0.000
4	0.000	0.050	0.000	0.500	0.000	0.594	0.029	0.206	0.000	0.000	0.000	0.056	0.025
5	1.000	0.950	0.955	0.038	0.000	0.031	0.118	0.000	0.000	0.067	0.083	0.000	0.000
6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.036	0.000	0.083	0.000	0.075
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.042	0.056	0.375
8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.107	0.267	0.000	0.056	0.175
9	0.000	0.000	0.000	0.077	0.000	0.000	0.000	0.059	0.179	0.167	0.208	0.111	0.250
10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.176	0.000	0.000	0.088	0.107	0.033	0.125	0.722	0.100
11	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000	0.176	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
12	0.000	0.000	0.045	0.000	0.441	0.250	0.029	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
13	0.000	0.000	0.000	0.000	0.324	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.292	0.000	0.000
14	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000
HAI9													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.382	0.500	0.167	0.042	0.056	0.600
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.182	0.346	0.794	0.000	0.000	0.088	0.000	0.167	0.000	0.278	0.050
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.033	0.000	0.000	0.150
5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.563	0.412	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
6	0.000	0.000	0.000	0.231	0.000	0.344	0.353	0.147	0.077	0.533	0.208	0.444	0.075
7	0.125	0.350	0.136	0.000	0.029	0.031	0.000	0.029	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000
8	0.875	0.650	0.682	0.423	0.176	0.063	0.235	0.235	0.385	0.067	0.250	0.167	0.125
9	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.118	0.038	0.000	0.458	0.056	0.000
TOR5													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.147	0.071	0.033	0.000	0.000	0.000
3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.000	0.233	0.000	0.111	0.000
4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.107	0.167	0.333	0.056	0.100
5	0.000	0.000	0.000	0.231	0.912	0.469	0.294	0.324	0.179	0.200	0.083	0.500	0.450
6	0.958	0.875	0.000	0.769	0.088	0.250	0.294	0.382	0.464	0.233	0.417	0.222	0.275

7	0.042	0.125	0.750	0.000	0.000	0.281	0.294	0.059	0.107	0.133	0.083	0.056	0.125
8	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000	0.118	0.000	0.000	0.000	0.083	0.056	0.050
TOR9													
1	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.667	0.375	0.083	0.769	0.441	0.844	1.000	0.971	0.929	0.667	0.583	0.889	1.000
3	0.000	0.000	0.500	0.000	0.000	0.156	0.000	0.029	0.071	0.333	0.000	0.000	0.000
4	0.333	0.625	0.167	0.231	0.559	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.417	0.111	0.000
HAI5													
1	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.357	0.067	0.042	0.000	0.000
3	0.500	0.550	0.000	0.538	0.294	0.719	0.824	0.147	0.179	0.167	0.125	0.111	0.100
4	0.500	0.375	0.917	0.000	0.706	0.281	0.176	0.853	0.393	0.567	0.208	0.444	0.575
5	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200	0.625	0.389	0.025
6	0.000	0.000	0.000	0.462	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.300
7	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
HAI10													
1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.167	0.056	0.175
2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.063	0.029	0.000	0.000	0.000	0.417	0.111	0.000
3	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.088	0.206	0.115	0.100	0.000	0.278	0.000
4	0.958	0.625	0.700	0.577	0.206	0.500	0.500	0.294	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000
5	0.042	0.100	0.300	0.423	0.794	0.406	0.382	0.353	0.808	0.367	0.167	0.389	0.400
6	0.000	0.275	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.147	0.038	0.433	0.000	0.111	0.425
7	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.038	0.100	0.000	0.000	0.000
8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000

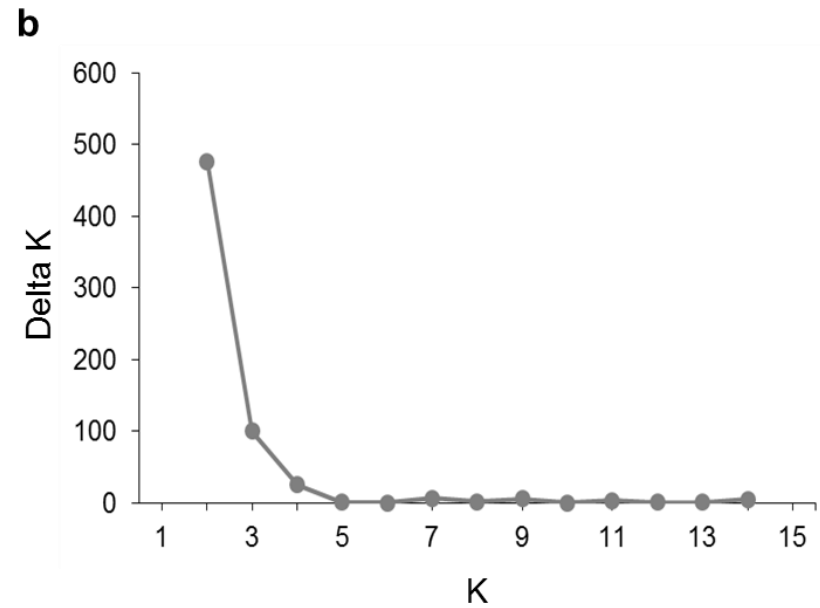
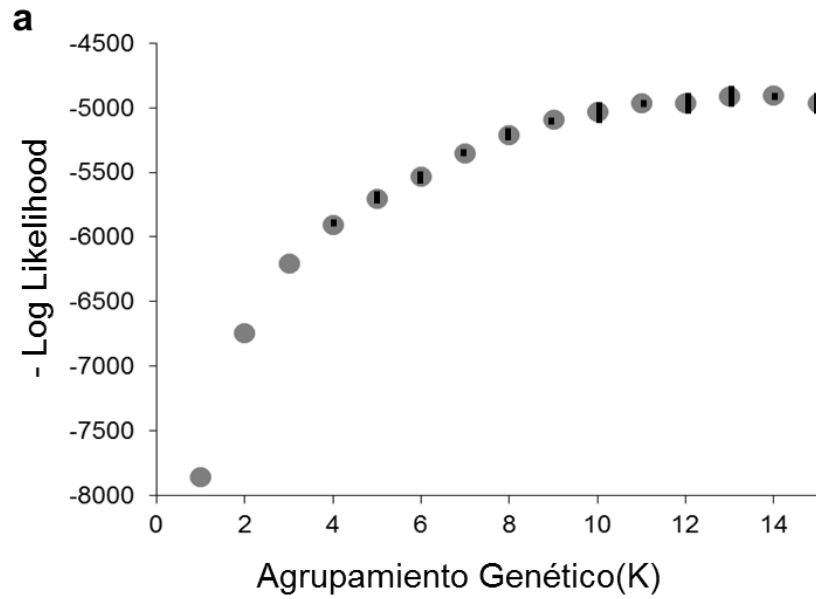
Anexo 4. En la parte superior se muestra la riqueza alélica por localidad para todos los loci, y la parte inferior se muestra la riqueza alélica media por localidad.



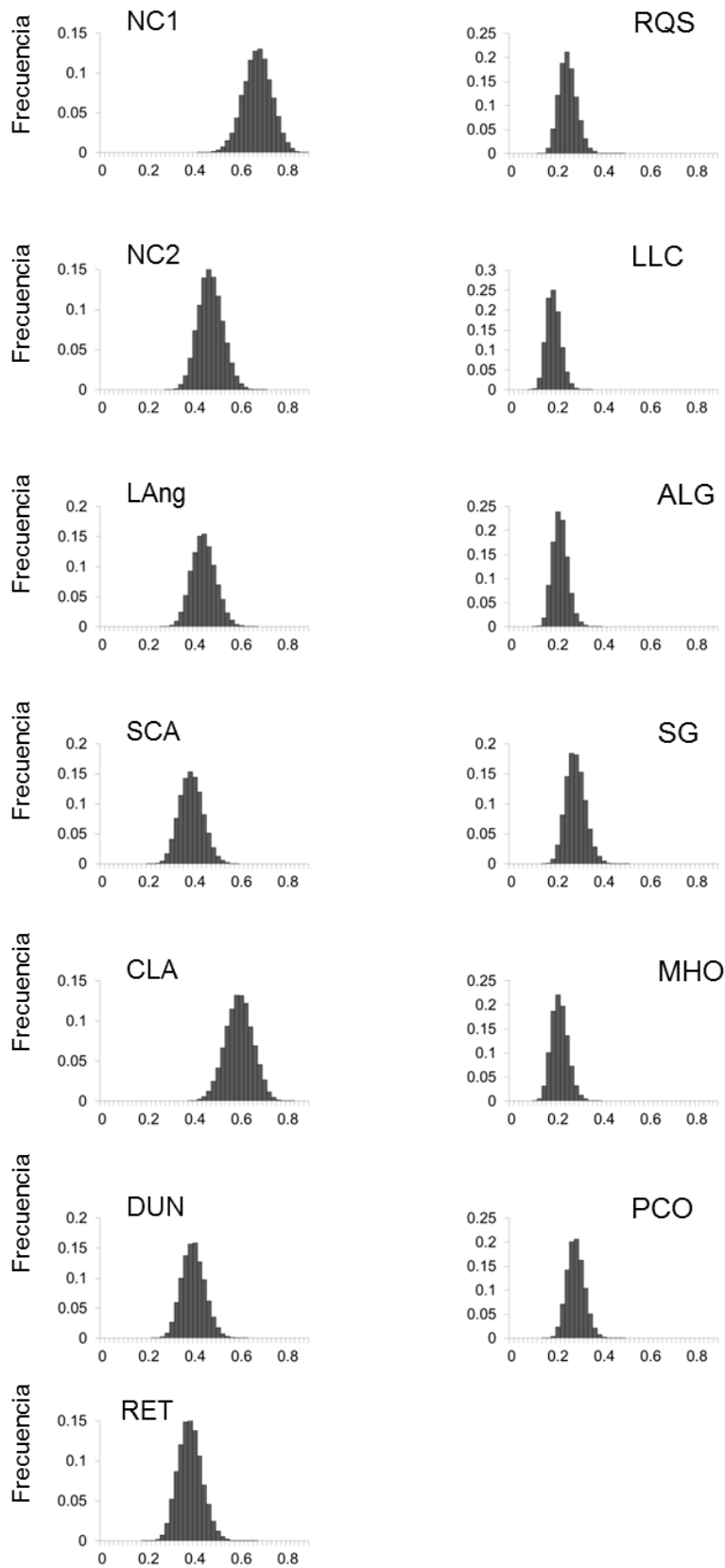
Anexo 5. Reconstrucción filogenética utilizando las distancias genéticas de Bruvo (Bruvo et al. 2004).



Anexo 6. a) Logaritmo de la probabilidad de los datos en función del número de agrupamientos genéticos K; b) valores de Δk utilizando el método de Evanno.



Anexo 7. Distribución de frecuencias de los valores de F.



Anexo 8. Resultados obtenidos a partir de MaxEnt y del Modelo Lineal Generalizado (GLM) implementado en GESTE.

El hábitat potencial (o adecuado) obtenido con MaxEnt mostró un muy buen desempeño, con un alto valor de AUC ($0,95 \pm 0,009$). La inspección visual del hábitat potencial indicó que las áreas con una alta probabilidad de ocurrencia de *C. australis* se alinearon estrechamente con su distribución conocida. Esto también reveló que el criterio de umbral seleccionado para generar los mapas binarios funcionó correctamente. A partir de esta capa binaria (hábitat adecuado/inadecuado) se aplicó una superficie artificial de 20 km de largo por ocho de ancho, y así poder generar en FRAGSTATS el conjunto de variables detalladas en la metodología, para finalmente ser implementado en GESTE.

La estructura poblacional de *C. australis* fue mejor explicada por aquellos modelos que consideraron los factores Longitud Geográfica ($P = 0,158$) y Ancho de la Barrera Austral ($P = 0,187$). Las probabilidades posteriores de estos factores fueron superiores a las obtenidas por el modelo nulo ($P = 0,066$). Otros dos modelos que presentaron probabilidades posteriores similares al modelo nulo fueron, la Distancia euclidiana al vecino más cercano ($P = 0,030$) y la Conectividad entre parches de hábitat óptimos ($P = 0,053$). Las probabilidades posteriores del resto de los modelos fueron insignificantes ($0,01$). La consideración de 10 factores y sus interacciones condujo a la obtención de 1.024 modelos alternativos, lo que dificulta la comparación de sus probabilidades posteriores. Por tanto, siguiendo a Gaggiotti et al. (2009) y Mapelli et al. (2012a), se realizó un segundo análisis combinando solo aquellos factores ambientales que obtuvieron probabilidades más altas que el modelo nulo, así como aquellos con valores cercanos a dicho modelo. Aunque en este nuevo análisis, la probabilidad posterior de los modelos que incluyeron solo -Distancia euclidiana al vecino más cercano- y -Conectividad entre parches de hábitat óptimos- aumentó a 0,054 y 0,062 respectivamente, continuaron siendo menores que la del modelo nulo, que presentó un valor de 0,108. Como era de esperarse, los dos factores que originalmente presentaron probabilidades superiores a la del modelo nulo, siguieron la misma tendencia en este segundo análisis.

Anexo 9. Se muestran los valores de los factores que resultaron significativos en la estructura poblacional de *C. australis* (G1: Longitud geográfica; G2: Ancho de la Barrera Austral (Km)). Las abreviaturas para los sitios de muestreo se definen en la Figura 1.

Sitios de muestreo	G1	G2
NC1	-58.7	0.67
NC2	-58.8	0.87
LAng	-59.0	0.75
SCA	-59.4	3.54
CLA	-60.0	2.88
DUN	-60.1	2.58
RET	-60.3	3.23
RQS	-60.5	4.76
LLC	-60.7	5.52
ALG	-60.9	7.38
SG	-61.2	6.84
MHO	-61.3	4.32
PCO	-61.6	6.57

Conclusiones Generales

En esta tesis se provee información respecto a distintos aspectos de las barreras medanosas bonaerenses, como de las especies de tuco-tucos que la habitan. Por un lado, se evaluó la pérdida de hábitats naturales durante los últimos 30 años y los patrones de fragmentación ocurridos en la costa de dunas. Así mismo, sobre estas mismas barreras medanosas, se pudo establecer la presencia de una tercera especie de *Ctenomys*, entidad que originalmente fue considerada como *C. talarum recessus*. Con esta nueva información, se establecieron las distribuciones potenciales para cada una de las tres especies de tuco-tucos en el área de estudio, identificando las variables ambientales que más influyeron en cada una, evaluando a su vez distintos aspectos de superposición entre las mismas. Por último, y teniendo en cuenta las características y configuración del paisaje costero, se analizó el grado de estructuración genético poblacional en una de estas tres especies presente en la Barrera Medanosa Austral (*C. australis*), logrando identificar las principales causas de la diferenciación genética encontrada entre sus poblaciones.

La evaluación llevada a cabo en ambas barreras de dunas costeras respecto a las perturbaciones humanas, como la urbanización y la forestación, muestra una pérdida y fragmentación de los hábitats naturales durante los últimos 30 años. La BMO fue la que experimentó mayores alteraciones de sus hábitats naturales, mostrando un alto grado de fragmentación desde 1985. En la actualidad, las áreas antrópicas ocupan en distintos sectores de esta barrera, todo el ancho de la misma, percibiéndose un notorio aislamiento y falta de conectividad entre los hábitats naturales remanentes. Aunque la BMA mostró un menor impacto del desarrollo urbano durante las últimas décadas, de todos modos se pudo observar un incremento gradual en la pérdida y fragmentación de sus hábitats. Básicamente, el avance progresivo de las áreas antropizadas produjo cambios en la configuración paisajística de ambas barreras medanosas. Considerando esta información, es que se llevó a cabo el análisis de estructuración genética poblacional en *C. australis*. En esta especie, se evidenció la asociación entre la diferenciación poblacional en el rango completo de su distribución y la disponibilidad de hábitat. Los resultados de este estudio mostraron que la mayoría de los sitios de muestreo representan unidades genéticas independientes. Más allá de la baja capacidad de dispersión típica de los roedores subterráneos, las barreras al flujo génico tanto naturales como antrópicas, la disponibilidad de hábitat y la distribución lineal del tuco-tuco de las dunas, han tenido en conjunto, una importante influencia en su estructura genética poblacional. Además, la

evolución del paisaje de dunas en la BMA durante los últimos 1600 años, parece haber tenido un gran impacto en cómo las poblaciones están conectadas actualmente por el flujo génico. La asociación entre la diferenciación genética y la disponibilidad de hábitat fue más notoria entre las poblaciones del noreste de la barrera medanosa, donde dicha disponibilidad es menor, siendo así las más afectadas por las características históricas del paisaje. Sin embargo, el avance de la urbanización y forestación en esta región costera en las últimas décadas (Turno Orellano e Isla 2004; ver Capítulo I) está impactando la disponibilidad de hábitat para esta especie en esta región.

Los análisis filogenéticos derivados del ADNmt dilucidaron la presencia de una tercera especie de *Ctenomys* en la BMA. Esta nueva entidad, de características fenotípicas similares a *C. talarum*, presentó monofilia recíproca respecto a esta última, con alto valor de soporte de nodo. Esto permitió también clarificar los límites de distribución para las tres especies de tuco-tucos presentes en la barrera.

En base a esta nueva información relacionada a la presencia de una tercera especie de tuco-tuco en la BMA, se generaron las distribuciones potenciales para cada una de las tres especies. Estas especies presentaron una fuerte relación con suelos friables y arenosos. Aunque las distribuciones fragmentadas son muy comunes en los tuco-tucos (Lacey 2000), algunas especies están seriamente amenazadas debido a las progresivas actividades antrópicas desarrolladas durante las últimas décadas. En este estudio, las distribuciones potenciales de *C. australis* y *Ctenomys* sp. resultaron muy restringidas, posiblemente debido a su alta dependencia por suelos más arenosos en comparación a *C. talarum*. Si bien estas dos últimas especies se encuentran principalmente en las dunas costeras, *C. talarum*, la especie con distribución más amplia en la región pampeana, está presente tanto en la costa como en áreas continentales alejadas de la costa. En las áreas alejadas de la costa, la presencia de *C. talarum* se limita a relictos de parches de pequeño tamaño inmersos en un paisaje muy fragmentado. La progresiva disminución de la superficie de los ambientes naturales presentes en las barreras de dunas costeras ocurrida en las últimas décadas (Isla 2013; ver Capítulo I), hace notoria la necesidad de tomar medidas de conservación a corto y largo plazo; estas medidas deberían enfatizar el valor intrínseco de estos ecosistemas costeros para muchas especies endémicas de distribución restringida. La alta especialización de hábitat, junto con las bajas tasas de dispersión encontradas en estos roedores subterráneos, hace que estas especies estén potencialmente amenazadas por cambios en sus ambientes. Así, la información sobre la distribución potencial de los tuco-tucos con rangos

extremadamente estrechos y/o aislados, resulta de gran utilidad para diseñar planes de conservación adecuados. Finalmente, este estudio muestra la importancia de seleccionar un conjunto adecuado de variables para predecir la distribución potencial de especies. Para especies especialistas de hábitat, como los tuco-tucos, es esencial incluir variables ambientales que capturen la variación de las características de su hábitat para modelar su distribución. La construcción de dichos modelos que incluyan solo variables bioclimáticas (como se ha reportado ampliamente en la literatura), puede llevar a una sobreestimación considerable de los hábitats idóneos en este tipo de especies. Es importante destacar la necesidad de obtener información biológica adicional de *Ctenomys* sp. para comprender su interacción con *C. australis*, la especie con la que comparte mayor similitud ambiental.

En conclusión, los resultados obtenidos en esta tesis brindan valiosa información respecto del paisaje costero bonaerense, y cómo su dinámica temporal y espacial ha interactuado con aspectos ecológicos, poblacionales y distribucionales de las tres especies de tuco-tucos que habitan estos ambientes. Así, esta tesis puede ser tomada como una herramienta a la hora de tomar decisiones de manejo de hábitats tanto a nivel local como regional, en especial en sectores de dunas en donde están presentes especies de distribución sumamente restringida y amenazadas, como *Ctenomys* sp. y *C. australis*. Teniendo en cuenta lo mencionado, el sector ubicado al suroeste de la BMA, donde se encuentran estas dos especies de tuco-tucos, cuenta aún con gran disponibilidad de hábitats naturales en comparación al sector noreste de la misma y a la BMO. Si bien es difícil señalar un sector de las barreras de dunas con prioridad para la conservación, ya que ambos paisajes costeros representan un relictos del Pastizal Pampeano con endemismos presentes, este sector parece ser prometedor para tal fin. Además de contar con mayor disponibilidad de hábitats naturales, este sector cuenta, en general, con un buen estado de conservación debido a que se encuentra protegido dentro de las Reservas Naturales “Arroyo Los Gauchos” y “Pehuen Có-Monte Hermoso”; constituye un refugio para varias especies típicas de estos ambientes, como las dos especies endémicas de tuco-tucos, la lagartija de las dunas, aves de pastizal y especies de plantas endémicas (Celsi et al. 2016). Algo similar se puede encontrar en el sector sur de la BMO, donde los sistemas de dunas costeras están en su estado natural, albergando distintas especies de flora y fauna. Este sector, protegido por la Reserva Natural “Faro Querandí”, es actualmente la única área de conservación de dunas desde la localidad de San Clemente del Tuyú hasta el partido de Villa Gesell (Celsi et al. 2016). La inclusión de nuevas áreas de conservación en ambas barreras de dunas costeras, como la ampliación

de algunas ya existentes (por ejemplo, la RN "Arroyo Los Gauchos"), puede planearse en base a información concreta reportada en esta tesis respecto a las características de los ambientes y las especies que habitan en ellos.

Agradecimientos

Esta tesis no podría haberse llevado a cabo sin la tarea conjunta de los Dres. Matías S. Mora, Marcelo J. Kittlein y Fernando J. Mapelli. En ellos encontré un grupo excelente de camaradería y confianza.

Quiero agradecer a los miembros del “Grupo Ecología Fisiológica y del Comportamiento” de la Universidad Nacional de Mar del Plata, por su calidez humana y su compañerismo diario (y todos los mates compartidos).

A la división de mastozoología del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia por su ayuda y colaboración, especialmente a Alberto Fameli, quien contribuyo con diversas tareas que aportaron a esta tesis.

A la Dra. Carolina Block del “Grupo Vertebrados” de la Universidad Nacional de Mar del Plata, por darme una mano en una etapa de aprendizaje.

A mi familia, Tessa y Emanuel, que a su manera me bancaron en todo. Gracias a su amor, paciencia y apoyo constante esta tesis fue posible.

A mis amigas biólogas, Bel, Juli y Valen, no solo por compartir esta hermosa profesión, sino por todas aquellas largas charlas al final del día.

Gracias a todos aquellos que de una manera u otra colaboraron para que esta tesis fuera posible.

Gracias!.

Bibliografía

Ahmadi M, Naderi M, Kaboli M, Nazarizadeh M, Karami M, Beitollahi SM (2018) Evolutionary applications of phylogenetically-informed ecological niche modelling (ENM) to explore cryptic diversification over cryptic refugia. *Mol Phylogenetics Evol.* <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.06.019>

Alberio C, Comparatore V (2014) Patterns of woody plant invasion in an Argentinean coastal grassland. *Acta Oecologica* 54: 65–71.

Aliaga VS, Ferrelli F, Alberdi-Algañaraz ED, Bohn VY, Piccolo MC (2016) Distribución y variabilidad de la precipitación en la región pampeana, Argentina. *Cuadernos de Investigación Geográfica* 42: 261-280.

Anderson RP, Raza A (2010) The effect of the extent of the study region on GIS models of species geographic distributions and estimates of niche evolution: preliminary tests with montane rodents (genus *Nephelomys*) in Venezuela. *J Biogeogr* 37: 1378–1393.

Amos JN, Harrison KA, Radford JQ, White M, Newell G, Nally RM, Sunnucks P, Pavlova A (2014) Species-and sex-specific connectivity effects of habitat fragmentation in a suite of woodland birds. *Ecology* 95 (6): 1556–1568.

Apfelbaum LI, Massarini AI, Daleffe LE, Reig OA (1991) Genetic variability in the subterranean rodents *Ctenomys australis* and *Ctenomys porteusi* (Rodentia: Octodontidae). *Biochem Syst Ecol* 19:467–476

Apodaca JJ, Rissler LJ, Godwin JC (2012) Population structure and gene flow in a heavily disturbed habitat: implications for the management of the imperilled Red Hills salamander (*Phaeognathus hubrichti*). *Conserv Genet* 13:913–923

Austin MP, Van Niel KP (2011) Improving species distribution models for climate change studies: variable selection and scale. *J Biogeogr* 38: 1–8.

Austrich A, Mapelli FJ, Mora MS, Pereyra D, Kittlein MJ (2017) Redefiniendo la distribución geográfica de las especies del género *Ctenomys* (Rodentia: Ctenomyidae) sobre el sistema de dunas costeras del sudeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Libro de Resúmenes XXX, Jornadas Argentinas de Mastozoología pag. 168.

Balding DJ, Nichols RA (1995) A method for quantifying differentiation between populations at multi-allelic loci and its implications for investigating identity and paternity. *Genetica* 96:3–12

Barragán Muñoz JM, Dadón JR, Matteucci SD, Morello JH, Baxendale C, Rodríguez A (2003) Preliminary basis for an integrated management program for the coastal zone of Argentina. *Coastal Management* 31 (1): 55–77.

Bazzichetto M, Malavasi M, Acosta ATR, Carranza ML (2016) How does dune morphology shape coastal dune EC-habitat distribution? A remote sensing approach using Airborne LiDAR in the Mediterranean coast. *Ecological Indicators* 71: 618–626.

Beerli P (2006) Comparison of Bayesian and maximum likelihood inference of population genetic parameters. *Bioinformatics* 22:341–345

Beerli P (2008) MIGRATE documentation (version 3.0). Technical Report.

Beerli P, Felsenstein J (2001) Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in *n* subpopulations by using a coalescent approach. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:4563–4568

Bergek S, Björklund M (2007) Cryptic barriers to dispersal within a lake allow genetic differentiation within a population of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Evolution* 61:2035–2041

Biello R, Brunelli A, Sozio G, Havenstein K, Mortelliti A, Ketmaier V, Bertorelle G (2018) Genetic structure in the wood mouse and the bank vole: contrasting patterns in a human-modified and highly fragmented landscape. *bioRxiv*.
<https://doi.org/10.1101/464057>

Björklund M, Ruiz I, Senar JC (2010) Genetic differentiation in the urban habitat: the great tits (*Parus major*) of the parks of Barcelona city. *Biol J Linn Soc* 99:9–19

Block C (2014) Selección de hábitat a escala de paisaje y microhábitat en lagartijas arenícolas. Herramientas para el manejo sustentable del ecosistema dunícola costero de la provincia de Buenos Aires (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires.

Block C, Pedrana J, Stellatelli OA, Vega LE, Isacch JP (2016) Habitat suitability models for the sand lizard *Liolaemus wiegmanni* based on landscape characteristics in temperate coastal dunes in Argentina. *Austral Ecology* 41 (6): 671–680.

Boettinger JL, Howell DW, Moore AC, Hartemink AE, Kienast- Brown S (2010) Digital soil mapping: Bridging research, environmental application, and operation. Springer-Verlag, Dordrecht, the Netherlands.

Broennimann O, Fitzpatrick MC, Pearman PB, Petitpierre B, Pellissier L, Yoccoz NG, Thuiller W, Fortin MJ, Randin C, Zimmermann NE, Graham CH, Guisan A (2012) Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. *Global Ecol Biogeogr* 21: 481–497.

Broennimann O, Di Cola V, Petitpierre B, Breiner F, et al. (2018) Package 'ecospat'.

Brown AC, McLachlan A (2002) Sandy shore ecosystems and the threats facing them: some predictions for the year 2025. *Environmental Conservation* 29 (1): 62–77.

Bruvo R, Michiels NK, D'Souza TG, Schulenburg H (2004) A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Molecular Ecology* 13:2101–2106

Buffenstein R (2000) Ecophysiological responses of subterranean rodents to underground habitats. In: Lacey EA, Patton JL, Cameron GN (eds) *Life underground*. The University of Chicago Press, Chicago, pp 62–110.

Busch C, Antinuchi CD, del Valle JC, Kittlein MJ, Malizia AI, Vassallo AI, Zenuto RR (2000) Population ecology of subterranean rodents. In: Lacey EA, Patton JL, Cameron GN (eds) *Life*

underground: the biology of subterranean rodents. University of Chicago Press, Chicago, pp 183–226

Cabrera AL (1971) Fitogeografía de la República Argentina. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 14: 1–42.

Cabrera AL, Zardini EM (1979) Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires. Buenos Aires: Acme Buenos Aires.

Caraballo D, Tomasco IH, Campo D, Rossi S (2016) Phylogenetic relationships between the tuco-tucos (*Ctenomys*, Rodentia) of the Corrientes group and the *C. pearsoni* complex. Mastozoología Neotropical 23: 39-49.

Carboni M, Carranza ML, Acosta A (2009) Assessing conservation status on coastal dunes: a multiscale approach. Landscape and Urban Planning 91 (1): 17–25.

Carnovale SC (2020) Ctenómidos de la Región Pampeana: análisis filogenético y filogeografía de la especie *Ctenomys talarum* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Carretero S, Braga F, Kruse E, Tosi L (2014) Temporal analysis of the changes in the sand-dune barrier in the Buenos Aires Province, Argentina, and their relationship with the water resources. Applied Geography 54: 169–181.

Celsi CE, Monserrat AL (2008) Vascular plants, coastal dunes between Pehuen-Có and Monte Hermoso, Buenos Aires, Argentina. Check List 4 (1): 37–46.

Celsi CE, Monserrat AL (2008) La vegetación dunícola en el frente costero de la Pampa Austral (Partido de Coronel Dorrego, Buenos Aires). Multequina 17:73–92

Chiucci JE, Gibbs HL (2010) Similarity of contemporary and historical gene flow among highly fragmented populations of an endangered rattlesnake. Molecular Ecology 19:5345–5358

Christensen SN, Ib J (2001) The lichen-rich coastal heath vegetation on the isle of Anholt, Denmark description, history and development. Journal of Coastal Conservation 7 (1): 1–12.

Chuvienco E (1991) Fundamentos de teledetección especial. Estudios Geográficos 52: 371.

Ciofi C, Beaumont MA, Swingland IR, Bruford MW (1999) Genetic divergence and units for conservation in the Komodo dragon *Varanus komodoensis*. Proc R Soc Lond B 266:2269–2274

Comparatore VM, Agnusdei M, Busch C (1992) Habitat relations in *Ctenomys australis* and *Ctenomys talarum* (Rodentia, Octodontidae) in a natural grassland. Z Säugetierkd 57: 47–55.

Connor T, Viña A, Winkler JA, Hull V, Tang Y, Shortridge A, Yang H, Zhao Z, Wang F, Zhang J, Zhang Z, Zhou C, Bai W, Liu J (2019) Interactive spatial scale effects on species distribution modeling: The case of the giant panda. Sci Rep 9, 14563.

Congalton RG (1991) A review of assessing the accuracy of classifications of remotely sensed data. Remote Sensing of Environment 37 (1): 35–46.

Contreras JR, Reig OA (1965) Datos sobre la distribución del género *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae) en la zona costera de la Provincia de Buenos Aires entre Necochea y Bahía Blanca. Physis 25: 169–186.

Cook EA (2002) Landscape structure indices for assessing urban ecological networks. *Landscape and Urban Planning* 58 (2-4): 269– 280.

Cornuet J, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153:1989–2000

Corry RC (2005) Characterizing fine-scale patterns of alternative agricultural landscapes with landscape pattern indices. *Landscape Ecology* 20 (5): 591–608.

Crispo E, Moore JS, Lee-Yaw JA, Gray SM, Haller BC (2011) Broken barriers: human-induced changes to gene flow and introgression in animals. *BioEssays* 33:508–518

Crooks KR, Sanjayan M (2006) *Connectivity conservation*. Cambridge University Press, Cambridge

Cutrera AP, Mora MS (2017) Selection on MHC in a Context of Historical Demographic Change in 2 Closely Distributed Species of Tuco-tucos (*Ctenomys australis* and *C. talarum*). *J Hered* 108:628–639

Cutrera AP, Lacey EA, Busch C (2005) Genetic Structure in a solitary rodent (*Ctenomys talarum*): implications for kinship and dispersal. *Molecular Ecology* 14: 2511-2523.

Cutrera AP, Mora MS, Antenucci CD, Vassallo AI (2010) Intra and interspecific variation in home-range size in sympatric tuco-tucos, *Ctenomys australis* and *C. talarum*. *J Mammal* 91(6):1425–1434

D'Amico G (2009) Fragilidad de los espacios Litorales: lineamientos para comprender la erosión costera inducida en el Litoral Marítimo Bonaerense. El caso de la localidad de Mar del Tuyu. Argentina. *Revista Geografiando* 5(5): 169-186.

D'Elía G, Lessa EP, Cook JA (1999) Molecular Phylogeny of Tuco-Tucos, Genus *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae): Evaluation of the *mendocinus* Species Group and the Evolution of Asymmetric Sperm. *Journal of Mammalian Evolution* 6 (1): 19-38.

Dadon JR (1999) Gestión de sistemas con baja biodiversidad: Las playas arenosas del noreste de la provincia de Buenos Aires. In *Biodiversidad y uso de la tierra*, ed. S.D. Matteucci, O.T. Solbrig, J. Morello, and G. Halffter, 529–548. Buenos Aires: EUDEBAUNESCO.

Dadon JR (2002) El impacto del turismo sobre los recursos naturales costeros en la costa pampeana. In *Zona costera de la Pampa Argentina*, ed. J.R. Dadon and C.D. Matteucci, 101–121. Buenos Aires.

Dillenburg SR, Hesp PA (2009) Coastal barriers—an introduction. In *Geology and geomorphology of Holocene coastal barriers of Brazil*, S. R. Dillenburg, and P. A. Hesp, 1–15. Springer.

Dionne M, Caron F, Dodson JJ, Bernatchez L (2008) Landscape genetics and hierarchical genetic structure in Atlantic salmon: the interaction of gene flow and local adaptation. *Molecular Ecology* 17:2382–2396

Dixo M, Metzger JP, Morgante JS, Zamudio KR (2009) Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic coastal forest. *Biological Conservation* 142 (8): 1560–1569.

Doing H (1985) Coastal fore-dune zonation and succession in various parts of the world. *Vegetatio* 61 (1-3): 65–75.

Eastman JR (2012) Idrisi selva tutorial. Idrisi Production, Clark Labs-Clark University 45: 51–63.

Elith J, Leathwick JR (2009) Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 40: 677-697.

Elith J, Graham CH, Anderson RP, Dudík M, Ferrier S, et al (2006) Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* 29: 129–51.

Elith J, Phillips SJ, Hastie T, Dudík M, Chee YE, Yates CJ (2011) A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Divers Distrib* 17: 43 –57.

Escobar LE, Lira-Noriega A, Medina-Vogel G, Peterson AT (2014) Potential for spread of the white-nose fungus (*Pseudogymnoascus destructans*) in the Americas: use of Maxent and NicheA to assure strict model transference. *Geospat Health* 9: 221-229.

ESRI 2014. ArcGIS Desktop: Release 10. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute.

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals structure: a simulation study using the software. *Molecular Ecology* 14:2611–2620

Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) ARLEQUIN ver. 3.0: an integrated software packaged for population genetics data analysis. *Evol Bioinform* 1:47–50

Faggi A, Dadon J (2011) Temporal and spatial changes in plant dune diversity in urban resorts. *Journal of Coastal Conservation* 15(4): 585–594.

Fahrig L (2013) Rethinking patch size and isolation effects: the habitat amount hypothesis. *Journal of Biogeography* 40 (9): 1649–1663.

Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567–1587

Fanjul MS, Zenuto RR (2017) Female choice, male dominance and condition-related traits in the polygynous subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Behavioural Processes* 142: 46 – 55.

Fanjul MS, Varas MF, Zenuto RR (2018) Female preference for males that have exclusively marked or invaded territories depends on male presence and its identity in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Ethology* 124: 579 – 590.

Faubet P, Waples RS, Gaggiotti OE (2007) Evaluating the performance of a multilocus Bayesian method for the estimation of migration rates. *Mol Ecol* 16:1149–1166

Favennec, J (2002) *Connaissance et gestion durable des dunes de la côte atlantique*. Paris: Office National des Forêts.

Fernández-Stolz GP, Stolz JFB, de Freitas TRO (2007) Bottlenecks and dispersal in the tuco-tuco das dunas, *Ctenomys flamarioni* (Rodentia: Ctenomyidae): in Southern Brazil. *J Mammal* 88(4):935–945

Ferrelli F, Aliaga VS (2015) Variabilidad de las precipitaciones y sus efectos sobre la respuesta espacio-temporal de cuerpos de agua en la región pampeana, Argentina. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Lujan, Buenos Aires.

Ferrelli F, Brendel AS, Piccolo MC, Perillo GME (2020) Tendencia actual y futura de la precipitación en el sur de la Región Pampeana (Argentina). *Investigaciones Geográficas* DOI: dx.doi.org/10.14350/rig.59919

Fleming K, Johnston P, Zwartz D, Yokoyama Y, Lambeck K, Chappell J (1998) Refining the eustatic sealevel curve since the Last Glacial Maximum using far- and intermediate-field sites. *Earth and Planetary Science Letters* 163: 327–342.

Foll M, Gaggiotti OE (2006) Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of populations. *Genetics* 174:875–891

Freitas TRO (1995) Geographic distribution and conservation of four species of the genus *Ctenomys* in Southern Brazil. *Stud Neotrop Fauna Environ* 30: 53–59.

Freitas TRO (2016) Family Ctenomyidae (Tuco-tucos). In: Wilson DE, Lacer TE, Mittermeier RA (eds) *Handbook of the mammals of the world Lagomorphs and rodents I*. Barcelona: Lynx Edicions Publications, pp 498–534.

Galiano D, Bernardo-Silva J, de Freitas TRO (2014) Genetic pool information reflects highly suitable areas: the case of two parapatric endangered species of tuco-tucos (Rodentia: Ctenomyidae). *PLoS ONE* 9:e97301

Ghersa CM, de la Fuente E, Suarez S, Leon RJ (2002) Woody species invasion in the rolling Pampa grasslands, Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 88 (3): 271–278.

Gómez Fernández MJ, Boston ESM, Gaggiotti OE, Kittlein MJ, Mirol PM (2016) Influence of environmental heterogeneity on the distribution and persistence of a subterranean rodent in a highly unstable landscape. *Genetica*. <https://doi.org/10.1007/s10709-016-9937-7>

Gonçalves GL, Freitas TRO (2009) Intraspecific variation and genetic differentiation of the collared tuco-tuco (*Ctenomys torquatus*) in Souther Brazil. *Journal of Mammalogy* 90(4):1020–1031.

Goslee S (2011) Analyzing remote sensing data in R: The landsat package. *Journal of Statistical Software* 43(4).

Grunwald S, Thompson JA, Boettinger JL (2011) Digital Soil Mapping and Modeling at Continental Scales: Finding Solutions for Global Issues. *Soil Sci Soc Am J* 75: 1201-1213.

Guerschman JP, Paruelo JM, di Bella CM, Giallorenzi MC, Pacin F (2003) Land cover classification in the Argentine Pampas using multi-temporal Landsat TM data. *International Journal of Remote Sensing* 24 (17): 3381–3402.

Guisan A, Thuiller W (2005) Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecol Lett* 8: 993–1009.

Guisan A, Tingley R, Baumgartner JB, Naujokaitis-Lewis I, Sutcliffe PR, Tulloch AI, Martin TG (2013) Predicting species distributions for conservation decisions. *Ecol Lett* 16: 1424–1435.

Guo S, Thompson E (1992) Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiples alleles. *Biometrics* 48:361–372

Gutiérrez EE (2016) Ecological niche modelling requires real presence data and appropriate study regions: a comment on Medone et al. (2015). *Phil Trans R Soc B*. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0027>

Gutiérrez EE, Boria RA, Anderson RP (2014) Can biotic interactions cause allopatry? Niche models, competition, and distributions of South American mouse opossums. *Ecography* 37: 741–753.

Gutiérrez EE, Maldonado JE, Radosavljevic A, Molinari J, Patterson BD, Martínez-C JM, Rutter AR, Hawkins MTR, Garcia FJ, Helgen KM (2015) The taxonomic status of *Mazama bricenii* and the significance of the Táchira Depression for mammalian endemism in the Cordillera de Mérida, Venezuela. *PLoS One* 10: 1-24.

Haddad NM, Brudvig LA, Clobert J, Davies KF, Gonzalez A, Holt RD, Lovejoy TE, Sexton JO, Austin MP, Collins CD, Cook WM, Damschen EI, Ewers RM, Foster BL, Jenkins CN, King AJ, Laurance WF, Levey DJ, Margules CR, Melbourne BA, Nicholls AO, Orrock JL, Song DX, Townshend JR (2015) Habitat fragmentation and its lasting impact on earth's ecosystems. *Science Advances* 1 (2): e1500052.

Hanski I, Gaggiotti OE (2004) *Ecology, genetics, and evolution of metapopulations*. Elsevier Academic Press, San Diego.

Hartemink AE, McBratney AB, Mendonça-Santos ML (2008) *Digital soil mapping with limited data*. Springer-Verlag, Dordrecht, the Netherlands.

He KS, Bradley BA, Cord AF, Rocchini D, Tuanmu M, Schmidtlein S, Turner W, Wegmann M, Pettorelli N (2015) Will remote sensing shape the next generation of species distribution models?. *Remote Sens Ecol Conserv*. <https://doi.org/10.1002/rse2.7>

Herrera LP, Hermida VG, Martínez GA, Littera P, Maceira N (2005) Remote sensing assessment of *Paspalum quadrifarium* grasslands in the flooding Pampa, Argentina. *Rangeland Ecology & Management* 58 (4): 406–412.

Hesp PA, Short AD (1999) Barrier morphodynamics. In *Handbook of beach and shoreface morphodynamics*, A. D. Short, 307–333. Wiley.

Hoffman JD (2015) Habitat characteristics within a zone of separation between the ranges of two species of pocket Gophers. *Am Midl Nat* 173: 253–266.

Hoffman JD, Choate JR (2008) Distribution and status of the yellow-faced pocket gopher in Kansas. *West N Am Nat* 67: 483–492.

Imdad Ullah M, Aslam M, Saima A (2016) mctest: An R Package for Detection of Collinearity among Regressors. *The R Journal* 8: 499-509.

Isla FI (2006) Erosión y defensa costeras. Manual de manejo costero para la provincia de Buenos Aires. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, 125-147.

Isla FI (2013) From touristic villages to coastal cities: the costs of the big step in Buenos Aires. *Ocean & coastal management* 77: 59–65.

Isla FI, Cortizo LC, Schnack EJ (1996) Pleistocene and Holocene beaches and estuaries along the southern barrier of Buenos Aires, Argentina. *Quaternary Science Reviews* 15 (8-9): 833–841.

Isla FI, Cortizo LC, Turno OH (2001) Dinámica y Evolución de las Barreras Medanosas, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev Bras Geomorfol* 2:73–83.

Isla F, Bértola G, Farenga M, Cortizo L (2001) Variaciones antropogénicas de las playas del sudeste de Buenos Aires, Argentina. *Pesquisas em Geociencias* 28 (1): 27–35.

Isla FI, Bértola G, Merlotto A, Ferrante A, Cortizo L (2009) Requerimientos y disponibilidad de arenas para la defensa de las playas de Necochea y Lobería. *Rev Asoc Geol Argentina* 65:446–456.

Jolicoeur S, O'Carroll S (2007) Sandy barriers, climate change and long-term planning of strategic coastal infrastructures, îles-de-lamadeleine, gulf of st. Lawrence (Québec, Canada). *Landscape and Urban Planning* 81 (4): 287–298.

Juárez V, Isla F (1999) Evolución histórica del núcleo urbano de Villa Gesell. *Revista Geografica* 125: 49–60.

Juárez, V., and J.M. Mantobani (2006) La costa bonaerense: un territorio particular. In *Manual de Manejo Costero para la Provincia de Buenos Aires*, ed. F.I. Isla and C.A. Lasta, 41–69. Editorial EUDEM: Mar del Plata.

Justo ER, De Santis LJM, Kin MS (2003) *Ctenomys talarum*. *Mamm. Species* 730: 1–5.

Kalinowski ST (2011) The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: simulations and implications for human population structure. *Heredity* 106:625–632

Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol* 16:1099–1100

Kamvar ZN, Tabima JF, Grünwald NJ (2014) *Poppr*: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>

Ke, Y., J. Im, J. Lee, H. Gong, and Y. Ryu (2015) Characteristics of Landsat 8 OLI-derived NDVI by comparison with multiple satellite sensors and in-situ observations. *Remote Sensing of Environment* 164: 298–313.

Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647–1649

Kierepka EM, Anderson SJ, Swihart RK, Rhodes OE Jr (2016) Evaluating the influence of life-history characteristics on genetic structure: a comparison of small mammals inhabiting complex agricultural landscapes. *Ecol Evol* 6:6376–6396

Kittlein MJ, Vassallo AI, Mora MS, de Durana F, Ricciardulli MG, Tizón FR (2004) Dunas del Sureste Bonaerense. In: Bilenca D, Miñarro F (eds) *Identificación de Áreas Valiosas de Pastizal en las Pampas y Campos de Argentina. Uruguay y Sur de Brasil*, Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires, pp 76–77

Kokot R, Codignotto J, Elissondo M (2004). Vulnerabilidad al ascenso del nivel del mar en la costa de la provincia de Río Negro. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 59(3): 477-487.

Kubiak BB, Galiano D, De Freitas TRO (2015) Sharing the space: Distribution, habitat segregation and delimitation of a new sympatric area of subterranean rodents. *PLoS One* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123220>.

Kubiak BB, Gutiérrez EE, Galiano D, Maestri R, Freitas TRO (2017) Can Niche Modeling and Geometric Morphometrics Document Competitive Exclusion in a Pair of Subterranean Rodents (Genus *Ctenomys*) with Tiny Parapatric Distributions?. *Sci Rep* 7: 16283.

Lacey EA (2000) Spatial and social systems of subterranean rodents. In: Lacey EA, Patton JL, Cameron GN (eds) *Life Underground: the biology of subterranean rodents*. University of Chicago Press, Chicago and London, pp 257–293

Lacey EA (2001) Microsatellite variation in solitary and social tuco-tucos: molecular properties and population dynamics. *Heredity* 86:628–637

Lacey EA, Maldonado JE, Clabaugh JP, Matocq MD (1999) Interspecific variation in microsatellites isolated from tuco-tucos (Rodentia: Ctenomyidae). *Mol Ecol* 8:1753–1768.

Lahoz-Monfort JJ, Guillera-Arroita G, Milner-Gulland EJ, Young RP, Nicholson E (2010) Satellite imagery as a single source of predictor variables for habitat suitability modelling: how Landsat can inform the conservation of a critically endangered lemur. *J Appl Ecol* 47: 1094–1102.

Lal R (1991) Soil structure and sustainability. *J Sustain Agric* 1: 67–92.

Lasta, C., L. Ezpeleta, E. González, and D. Roselli (2010) Estrategia de fijación de dunas costera: Evaluación metodológica y económica en el partido de la costa. En *Manual de manejo de barreras medanosas de la Provincia de Buenos Aires*, ed. F.I. Isla and C. Lasta, 39–48 EUEDEM.

Laurance, W.F., J.L. Camargo, R.C. Luizão, S.G. Laurance, S.L. Pimm, E.M. Bruna, P.C. Stouffer, G.B. Williamson, J. Benítez-Malvido, H.L. Vasconcelos, et al. (2011) The fate of Amazonian forest fragments: a 32-year investigation. *Biological Conservation* 144 (1): 56–67.

Lazo-Cancino D, Rivera R, Paulsen-Cortez K, González-Berríos N, Rodríguez-Gutiérrez R, Rodríguez-Serrano E (2019) The impacts of climate change on the habitat distribution of the

vulnerable Patagonian-Fuegian species *Ctenomys magellanicus* (Rodentia, Ctenomyidae). *J Arid Environ* 173: 104016.

Leipnitz LT, Fornel R, Ribas LEJ, Kubiak BB, Galiano D, de Freitas TRO (2018) Lineages of Tuco-Tucos (Ctenomyidae: Rodentia) from Midwest and Northern Brazil: Late Irradiations of Subterranean Rodents Towards the Amazon Forest. *Journal of Mammalian Evolution*. doi:10.1007/s10914-018-9450-0

León R, Rusch G, Oesterheld M (1984) Pastizales pampeanosimpacto agropecuario. *Phytocoenologia* 12 (2-3): 201–218.

Librado P, Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.

Lillesand, T., R.W. Kiefer, and J. Chipman (2014) Remote sensing and image interpretation. John Wiley & Sons.

Liu C, Berry PM, Dawson TP, Pearson RG (2005) Selecting thresholds of occurrence in the prediction of species distributions. *Ecography* 28: 385–393.

Lopes CM (2011) História evolutiva de *Ctenomys minutus* e *Ctenomys lami* (Rodentia, Ctenomyidae) na planície costeira do Sul do Brasil. [PhD thesis]. [Porto Alegre (Brazil)]: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Luna F, Antinuchi CD (2006) Cost of foraging in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*: effect of soil hardness. *Can J Zool* 84: 661–667.

Luna F, Antinuchi CD (2007) Energy and distribution in subterranean rodents: Sympatry between two species of the genus *Ctenomys*. *Comp Biochem Phys A* 147: 948–954.

Malavasi, M., V. Bartak, M.L. Carranza, P. Simova, and A.T. Acosta (2018) Landscape pattern and plant biodiversity in Mediterranean coastal dune ecosystems: do habitat loss and fragmentation really matter? *Journal of biogeography*. <https://doi.org/10.1111/jbi.13215>.

Malizia AI, Vassallo AI, Busch C (1991) Population and habitat characteristics of two sympatric species of *Ctenomys* (Rodentia: Octodontidae). *Acta Theriol* 36: 87–94.

Manier MK, Arnold SJ (2005) Population genetic analysis identifies source-sink dynamics for two sympatric garter snake species (*Thamnophis elegans* and *Thamnophis sirtalis*). *Mol Ecol* 14:3965–3976

Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approaches. *Cancer Res* 27:209–220

Mapelli FJ, Kittlein MJ (2009) Influence of patch and landscape characteristics on the distribution of the subterranean rodent *Ctenomys porteousi*. *Landsc Ecol* 24(6):726–733

Mapelli FJ, Mora MS, Mirol PM, Kittlein MJ (2012) Population structure and landscape genetics in the endangered subterranean rodent *Ctenomys porteousi*. *Conserv Genet* 13:165–181.

Marcomini SC, López RA (2016) Geología de la Costa Marina Bonaerense. In: Athor J, Celsi CE (eds) *La Costa Atlántica de Buenos Aires: Naturaleza y Patrimonio Cultural*. Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Buenos Aires, pp 20–41.

Marcucci, DJ (2000) Landscape history as a planning tool. *Landscape and Urban Planning* 49: 67–81.

Martínez-Freiría F, Sillero N, Lizana M, Brito JC (2008) GIS-based niche models identify environmental correlates sustaining a contact zone between three species of European vipers. *Divers Distrib* 14: 452–461.

Martinez-Gordillo D, Rojas-Soto O, Espinosa de los Monteros A (2010) Ecological niche modelling as an exploratory tool for identifying species limits: an example based on Mexican muroid rodents. *J Evol Biol* 23: 259–270.

Martinson HM, Fagan WF (2014) Trophic disruption: a metaanalysis of how habitat fragmentation affects resource consumption in terrestrial arthropod systems. *Ecology Letters* 17 (9): 1178–1189.

McGarigal K, Cushman SA, Neel MC, Ene E (2002) FRAGSTATS: Spatial pattern analysis program for categorical maps. University of Massachusetts, Amherst

McGarigal K, Cushman SA, Ene E (2012) FRAGSTATS v4: spatial pattern analysis program for categorical and continuous maps. University of Massachusetts, Amherst

Meirmans PG (2015) Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Mol Ecol* 24:3223–3231.

Merow C, Smith M, Silander JA (2013) A practical guide to Maxent: what it does, and why inputs and settings matter. *Ecography* 36: 1–12.

Monserrat A (2010) Conservación en médanos: la vegetación de la costa bonaerense en Coronel Dorrego, Monte Hermoso y Coronel Rosales. In *Manual de Manejo de Barreras medanosas*, ed. F.I. Isla and C.A. Lasta, 197–216. Mar del Plata: EUDEM.

Monserrat AL, Celsi CE (2009) Análisis regional de la costa pampeana austral en el marco del sistema de áreas protegidas y caracterización de un área clave como reserva, en el partido de Coronel Dorrego. *BioScriba* 2: 1–23.

Monserud RA (1990) Methods for comparing global vegetation maps. Laxenburg, Austria: Institute for Applied Systems Analysis (IASA). WP-90-40.

Mora MS, Mapelli FJ (2010) Conservación en médanos: Fragmentación del hábitat y dinámica poblacional del tuco-tuco de las dunas. In: Isla FI, Lasta CA (eds) *Manual de manejo de barreras medanosas de la Provincia de Buenos Aires*. Universidad de Mar del Plata, Mar del Plata, pp 161–181

Mora MS, Lessa EP, Kittlein MJ, Vassallo AI (2006) Phylogeography of the subterranean rodent *Ctenomys australis* in sand-dune habitats: evidence of population expansion. *J Mammal* 87:1192–1203

Mora MS, Lessa EP, Cutrera AP, Kittlein MJ, Vassallo AI (2007) Phylogeographical structure in the subterranean tuco-tuco *Ctenomys talarum* (Rodentia: Ctenomyidae): contrasting the demographic consequences of regional and habitat-specific histories. *Mol Ecol* 16:3453–3465

Mora MS, Mapelli FJ, Gaggiotti OE, Kittlein MJ, Lessa EP (2010) Dispersal and population structure at different spatial scales in the subterranean rodent *Ctenomys australis*. *BMC Genet* 11:1–14

Mora MS, Cutrera AP, Lessa EP, Vassallo AI, D'Anatro A, Mapelli FJ (2013) Phylogeography and population genetic structure of the Talas tuco-tuco (*Ctenomys talarum*): integrating demographic and habitat histories. *J Mammal* 94(2):459–476

Mora MS, Mapelli FJ, López A, Gómez Fernández MJ, Mirol PM, Kittlein MJ (2016) Population genetic structure and historical dispersal patterns in the subterranean rodent *Ctenomys "chasiquensis"* from the southeastern Pampas region. *Argentina Mammal Biol* 81(3):314–325

Mora MS, Mapelli FJ, López A, Gómez Fernández MG, Mirol PM, Kittlein MJ (2017) Landscape genetics in the subterranean rodent *Ctenomys "chasiquensis"* associated with highly disturbed habitats from the southeastern Pampas region, Argentina. *Genetica* 145:575–591.

Moraitis ML, Tsikopoulou I, Geropoulos A, Dimitriou PD, Papageorgiou N, Giannoulaki M, Valavanis VD, Karakassis I (2018) Molluscan indicator species and their potential use in ecological status assessment using species distribution modeling. *Mar Environ Res* 140: 10–17.

Morán-Ordóñez A., Suárez-Seoane S, Elith J, Calvo L, de Luis E (2012) Satellite surface reflectance improves habitat distribution mapping: a case study on heath and shrub formations in the Cantabrian Mountains (NW Spain). *Divers Distrib* 18: 588–602.

Morueta-Holme N, Fløjgaard C, Svenning JC (2010) Climate change risks and conservation implications for a threatened small-range Mammal Species. *PLoS ONE* 5, e10360. doi:10.1371/journal.pone.0010360

Muller CJ, O'Gorman PA (2011) An energetic perspective on the regional response of precipitation to climate change. *Nature Climate Change* 1(5): 266.

Muscarella R, Galante PJ, Soley-Guardia M, Boria RA, Kass JM, Uriarte M, Anderson RP (2014) ENMeval: an R package for conducting spatially independent evaluations and estimating optimal model complexity for MAXENT ecological niche models. *Methods Ecol Evol* 5: 1198–1205.

Nagendra H, Munroe DK, Southworth J (2004) From pattern to process: landscape fragmentation and the analysis of land use/land cover change. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 101: 111–115.

Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583–590.

Nevo E (1999) *Mosaic Evolution of Subterranean Mammals: Regression, Progression, and Global Convergence*. Oxford University Press, New York.

Ochoa-Quintero JM, Gardner TA, Rosa I, Barros Ferraz SF, Sutherland WJ (2015) Thresholds of species loss in Amazonian deforestation frontier landscapes. *Conservation Biology* 29 (2): 440–451.

Ojeda RA, Ojeda AA, Novillo A (2016) The caviomorph rodents: distribution and ecological Diversification. In: Ebensperger LA., Hayes LD (eds) Sociobiology of Caviomorph Rodents: An Integrative Approach, John Wiley & Sons, Ltd, pp 1–27.

Olf H, Ritchie ME (2002) Fragmented nature: consequences for biodiversity. *Landscape and Urban Planning* 58 (2-4): 83–92.

Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C (1995) Microsatellite analysis of population structure of Canadian polar bears. *Mol Ecol* 4:347–354

Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol* 13:55–65.

Parada A, D'Elía G, Bidau CJ, Lessa EP (2011) Species groups and the evolutionary diversification of tuco-tucos, genus *Ctenomys* (Rodentia: Ctenomyidae). *Journal of Mammalogy* 92:671–682.

Pardini R, de Arruda Bueno A, Gardner TA, Prado PI, Metzger JP (2010) Beyond the fragmentation threshold hypothesis: regime shifts in biodiversity across fragmented landscapes. *PLoS One* 5 (10): e13666.

Patton JL, Pardiñas UFJ, D'Elía G (2015) *Mammals of South America*. University of Chicago Press Rodents.

Peterson AT, Papes M, Soberón J (2008) Rethinking receiver operating characteristic analysis applications in ecological niche modeling. *Ecol Model* 213: 63–72.

Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006) Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecol Model* 190:231–259

Ponce JF, Rabassa J, Coronato A, Borrromei AM (2011) Palaeogeographical evolution of the Atlantic coast of Pampa and Patagonia from the last glacial maximum to the Middle Holocene. *Biological Journal of the Linnean Society* 103: 363–379.

Pritchard JK, Wen W (2003) Documentation for STRU CTU RE software: Version 2. <https://www.pritch.h.bsd.uchicago.edu>

Pritchard J, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.

Provoost S, Jones MLM, Edmondson SE (2011) Changes in landscape and vegetation of coastal dunes in Northwest Europe: a review. *Journal of Coastal Conservation* 15 (1): 207–226.

Quintana AC (2004) El Registro de *Ctenomys talarum* durante el Pleistoceno Tardío-Holoceno de las Sierras de Tandilia Oriental. *Journal of Neotropical Mammalogy* 11: 45–53.

Rabassa J (2008) Late Cenozoic glaciations of Patagonia and Tierra del Fuego. En *Late Cenozoic of Patagonia and Tierra del Fuego* (ed., Rabassa J). *Developments in Quaternary Science*, Amsterdam. Elsevier 11: 151–204.

Radosavljevic A, Anderson RP (2014) Making better Maxent models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation. *J Biogeogr* 41: 629–643.

Rakotondranary SJ, Ganzhorn JU (2011) Habitat separation of sympatric *Microcebus* spp. in the dry spiny forest of south-eastern Madagascar. *Folia Primatologica* 82: 212–223.

Rambaut A, Suchard MA, Xie W, Drummond AJ (2014) Version v1.6.0. <https://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

Rannala B, Mountain JL (1997) Detecting immigration by using Multilocus genotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:9197–9201.

Reig OA, Busch C, Contreras J, Ortells M (1990) An overview of evolution, systematics, population biology and molecular biology in *Ctenomys*. In: Nevo E, Reig OA (eds) *Biology of Subterranean Mammals*. Allan Liss, New York, pp 71–96.

Rhind P, Blackstock T, Hardy H, Jones R, Sandison W (2001) The evolution of newborough warren dune system with particular reference to the past four decades. In *Coastal dune management, shared experience of European conservation practice*, ed. J.A. Houston, S.E. Edmondson, and P.J. Rooney, 345–379. Liverpool: Liverpool University press.

Rico C, Cuesta JA, Drake P, Macpherson E, Bernatchez L, Marie AD (2017) Null alleles are ubiquitous at microsatellite loci in the Wedge Clam (*Donax trunculus*). *PeerJ* 5:e3188. <https://doi.org/10.7717/peerj.3188>

Rodríguez-Alza M, García-Siccha K, Nureña-Zavaleta C, Palacios-Castillo A, Quijano-Camacho C, Santos-Del Aguila C, Vargas-Álvarez C, Vigo-Corea B (2016) Análisis de la erosión costera en la playa de Buenos Aires, distrito de Víctor Larco, provincia de Trujillo, La Libertad, Perú. *REFI UPN* 4(1): 19-31

Roratto PA, Bartholomei-Santos ML, de Freitas TRO (2011) Tetranucleotide microsatellite markers in *Ctenomys torquatus* (Rodentia). *Conserv Genet Resour* 3:725–727

Roratto PA, Fernandes FA, de Freitas TRO (2014) Phylogeography of the subterranean rodent *Ctenomys torquatus*: an evaluation of the riverine barrier hypothesis. *J Biogeogr* 42:694–705.

Rutledge D (2003) Landscape indices as measures of the effects of fragmentation: can pattern reflect process? *DOC Science Internal Series* 98, 27 p. Wellington: Department of Conservation.

Sarochar RH, Ciappesoni HH, Ruiz NE (2005) Precipitaciones convectivas y estratiformes en la pampa húmeda: una aproximación a su separación y aspectos climatológicos de ambas. *Meteorológica* 30: 77–88.

Sato JJ, Kawakami T, Tasaka Y, Tamenishi M, Yamaguchi Y (2014) A few decades of habitat fragmentation has reduced population genetic diversity: a case study of landscape genetics of the large Japanese field mouse, *Apodemus speciosus*. *Mammal Study* 39:1–10.

Schwartz MW, Thorne JH, Viers JH (2006) Biotic homogenization of the California flora in urban and urbanizing regions. *Biological Conservation* 127 (3): 282–291.

Sequeira AS, Stepien CC, Tran CT, Stuckert A, Albelo LR, Guo W (2016) Exploring the legacy of goat grazing: signatures of habitat fragmentation on genetic patterns of endemic weevil

populations in northern Isabela island, Galápagos (Ecuador). *Conservation Genetics* 17 (4): 903–920.

Shams I, Avivi A, Nevo E (2005) Oxygen and carbon dioxide fluctuations in burrows of subterranean blind mole rats indicate tolerance to hypoxic-hypercapnic stresses. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 142: 376-82.

Shirley SM, Yang Z, Hutchinson RA, Alexander JD, McGarigal K, Betts MG (2013) Species distribution modelling for the people: unclassified landsat TM imagery predicts bird occurrence at fine resolutions. *Diversity Distrib* 19: 855–866.

Sikes RS, Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists (2016) Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *J Mammal* 97:663–688

Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and nonequilibrium populations. *Evolution* 47:264–279

Slatkin M (1995) A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* 139:457–462.

Smeraldo S, Di Febbraro M, Ćirović D, Bosso L, Trbojević I, Russo D (2017) Species distribution models as a tool to predict range expansion after reintroduction: a case study on Eurasian beavers (*Castor fiber*). *J Nat Conserv* 37: 12–20.

Soley-Guardia M, Gutiérrez EE, Thomas DM, Ochoa-G J, Aguilera M, Anderson RP (2016) Are we overestimating the niche? Removing marginal localities helps ecological niche models detect environmental barriers. *Ecology and Evolution* 6: 1267–1279.

Sony RK, Sena S, Kumarb S, Send M, Jayaharid KM (2018) Niche models inform the effects of climate change on the endangered Nilgiri Tahr (*Nilgiritragus hylocrius*) populations in the southern Western Ghats, India. *Ecol Eng* 120: 355–363.

Soriano A, León R, Sala O, Lavado R, Deregibus V, Cauhepé M, Scaglia O, Velázquez C, Lemcoff J (1991) Rio de la Plata grasslands. In *Natural grasslands, introduction and Western Hemisphere*, ed. R.T. Coupland, 367–407. Amsterdam: Elsevier.

Spanner MA, Pierce LL, Peterson DL, Running SW (1990) Remote sensing of temperate coniferous forest leaf area index The influence of canopy closure, understory vegetation and background reflectance. *Int J Remote Sens* 11: 95-111.

Sperandii MG, Bazzichetto M, Acosta ATR, Bartak V, Malavasi M (2019) Multiple drivers of plant diversity on coastal dunes: a Mediterranean experience. *Science of the Total Environment* 654: 1435–1444.

Spiegelhalter DJ, Best NG, Carlin BR, van der Linde A (2002) Bayesian measures of model complexity and fit. *J R Stat Soc B* 64:583–616.

Steinberg EK, Patton JL (2000) Genetic structure and the geographic of the speciation in subterranean rodents: opportunities and constraints for evolutionary diversification. In: Lacey EA,

Patton JL, Cameron GN (eds) Life underground: the biology of subterranean rodents. University of Chicago Press, Chicago, pp 183–226

Suárez-Seoane S, Virgós E, Terroba O, Pardavila X, Barea-Azcón JM (2014) Scaling of species distribution models across spatial resolutions and extents along a biogeographic gradient. The case of the Iberian mole *Talpa occidentalis*. *Ecography* 37: 279–292.

Sudhir K, Stecher G, Tamura K (2015) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).

Sutherland GD, Harestad AS, Price K, Lertzman KP (2000) Scaling of natal dispersal distances in terrestrial birds and mammals. *Conserv Ecol* 4:16.

Syfert MM, Smith MJ, Coomes DA (2013) The effects of sampling bias and model complexity on the predictive performance of MaxEnt species distribution models. *PLoS One* 8: 1–10.

Taveira Pinto F (2004) The practice of coastal zone management in Portugal. *Journal of Coastal Conservation* 10 (1): 147–158.

Teta P, Abba AM, Cassini GH, Flores DA, Galliari CA, Lucero SO, Ramírez M (2018) Lista Revisada de los Mamíferos de Argentina. *Mastozoología Neotropical* 25(1):163-198.

Teta P, D'Elía G (2019) The least known with the smallest ranges: analyzing the patterns of occurrence and conservation of South American rodents known only from their type localities. *Therya* 10(3):271–278. <https://doi.org/10.12933/therya-19-886>

Teta P, D'Elía G (2020) Uncovering the species diversity of subterranean rodents at the end of the World: three new species of Patagonian tuco-tucos (Rodentia, Hystricomorpha, *Ctenomys*). *PeerJ*. 8:1–35.

Teta P, D'Elía G, Opazo JC (2020) Integrative taxonomy of the southernmost tuco-tucus in the world: differentiation of the nominal forms associated with *Ctenomys magellanicus* Bennett, 1836 (Rodentia, Hystricomorpha, Ctenomyidae). *Mammalian Biology* 100:125–139.

Thuiller W, Araújo MB, Lavorel S (2004) Do we need land-cover data to model species distributions in Europe? *J Biogeog* 31: 353–361.

Thomas O (1898) Descriptions of two new Argentine rodents. *Annals and Magazine of Natural History* 7(1): 283–286.

Tomasco IT, Lessa EL (2007) Phylogeography of the Tuco-tuco *Ctenomys pearsoni*: mtDNA variation and its Implication for Chromosomal Differentiation. In: Kelt DA, Lessa EP, Salazar-Bravo J, Patton JL (eds) *The quintessential naturalist: honoring the life and legacy of Oliver P.* University of California Press, Pearson, Berkeley, Los Angeles and London, pp 859–882.

Tomaselli V, Tenerelli P, Sciandrello S (2012) Mapping and quantifying habitat fragmentation in small coastal areas: a case study of three protected wetlands in Apulia (Italy). *Environmental Monitoring and Assessment* 184 (2): 693–713.

Torres R, Jayat P (2010) Modelos predictivos de distribución para cuatro especies de mamíferos (Cingulata, Artiodactyla y Rodentia) típicas del Chaco en Argentina. *Mastozoología Neotropical* 17: 335-352.

Turno Orellano HA, Isla FI, Juárez VI (2003) Implementación de un SIG en la evaluación de la aptitud para prácticas forestales en el litoral bonaerense. *Boletim Paranaense de Geociências* 53:27–34

Turno Orellano HA, Isla FI (2004) Developing sinks for CO₂ through forestation of temperate coastal barriers: an environmental business. *Reg Environ Change* 4:70–76.

Uriarte Cantolla A (2003) Historia del clima de la tierra. Victoria-Gasteiz: Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, 306.

VanDerWal J, Falconi L, Januchowski S, Shoo L, Storlie C, VanDerWal MJ (2014) Package 'sdmtools'.

Vassallo AI (1993) Habitat shift after experimental removal of the bigger species in sympatric *Ctenomys talarum* and *Ctenomys australis* (Rodentia: Octodontidae). *Behaviour* 127: 247–263.

Vassallo AI (1998) Functional morphology, comparative behaviour, and adaptation in two sympatric subterranean rodents of genus *Ctenomys* (Caviomorpha: Octodontidae). *J Zool* 244:415–427.

Vega L (1999) Ecología de saurios arenícolas de las dunas costeras bonaerenses (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires.

Vega de Seoane CLV, Fernández JBG, Pascual CV (2007) Manual de restauración de dunas costeras. Dirección General de Costas.

Verzi DH (2008) Phylogeny and adaptive diversity of rodents of the family Ctenomyidae (Caviomorpha): delimiting lineages and genera in the fossil record. *J. Zool. (London)* 274: 386–394.

Verzi DH, Olivares AI (2006) Craniomandibular joint in South American burrowing rodents (Ctenomyidae): adaptations and constraints related to a specialised mandibular position in digging. *J. Zool. (London)* 270: 488–501.

Verzi DH, Olivares AI, Morgan CC (2010) The oldest South American tuco-tuco (late Pliocene, northwestern Argentina) and the boundaries of the genus *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae). *Mammalian Biology* 75: 243–252.

Viglizzo E, Lértora F, Pordomingo A, Bernardos J, Roberto Z, Del Valle H (2001) Ecological lessons and applications from one century of low external input farming in the pampas of Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 83 (1-2): 65–81.

Visser JH, Bennett NC, van Vuuren BJ (2018) Spatial genetic diversity in the Cape mole-rat, *Georchus capensis*: Extreme isolation of populations in a subterranean environment. *PLoS ONE* 13:e0194165.

Wang C, Caldas MM (2014) Fragmentation patterns in land reform settlements in the Brazilian Amazon. *Society & Natural Resources* 27 (7): 742–758.

Waples RS, Do C (2010) Linkage disequilibrium estimates of contemporary Ne using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evol Appl* 3:244–262

Waples R, Gaggiotti OE (2006) What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Mol Ecol* 15:1419–1439

Wilson GA, Rannala B (2003) Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. *Genetics* 163:1177–1191

Wlasiuk G, Garza JC, Lessa EP (2003) Genetic and geographic differentiation in the Rio Negro tuco-tuco (*Ctenomys rionegrensis*): inferring the roles of migration and drift from multiple genetic markers. *Evolution* 57:913–926.

Zalba S, Villamil C (2002) Woody plant invasion in relictual grasslands. *Biological Invasions* 4: 55–72.

Zárate MA, Tripaldi A (2012) The aeolian system of central Argentina. *Aeolian Research* 3 (4): 401–417.

Zenuto RR, Busch C (1995) Influence of the subterranean rodent *Ctenomys australis* (tuco-tuco) in a sand-dune grassland. *Z Säugetierkunde* 60:277–285

Zenuto RR, Busch C (1998) Population biology of the subterranean rodent *Ctenomys australis* (tuco-tuco) in a coastal dune-field in Argentina. *Z Säugetierkunde* 63:357–367.

Zenuto RR, Lacey EA, Busch C (1999) DNA fingerprinting reveals polygyny in the subterranean rodent *Ctenomys talarum*. *Molecular Ecology* 8: 1529–1532.