Scientia Interfluvius 6 (1-2): 64-73, 2015- Paraná ISSN 1853-4422 (printed) ISSN 1853-4430 (on line)

GROWTH AND REPRODUCTION OF *CHELONOIDIS CHILENSIS* (REPTILIA, TESTUDINIDAE) IN CAPTIVITY

CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN DE *CHELONOIDIS CHILENSIS* (REPTILIA, TESTUDINIDAE) EN CAUTIVERIO

María Laura Romito[1]; María Virginia Parachú Marcó[1,2] y Alba Imhof[1,3]
[1]Laboratorio de Zoología Aplicada, Anexo Vertebrados - Departamento de Ciencias Naturales (FHUC – UNL/ MASPyMA). Aristóbulo del Valle 8700 - Santa Fe, Argentina. marialauraromito@yahoo.com.ar– albaimhof@hotmail.com
[2] Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada (LBCMA), Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET). R.P. Kreder 2805, Esperanza, Santa Fe, Argentina. virginiapara2@hotmail.com
[3]Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral, Paraje El Pozo s/n, Santa Fe, Argentina

ABSTRACT. *Chelonoidis chilensis* is an endemic Argentine tortoise. It is considered by the IUCN (International Union for the Conservation of Nature) to be a vulnerable species, being the most traded native reptile in the illegal pet market. At present, little is known about the reproductive biology of this chelonian, therefore the aim of this paper is to contribute to the knowledge on reproduction and growth in captivity of *C. chilensis*. We used adult tortoise of both sexes, separated into two reproductive enclosures, and their growth was recorded monthly over a period of 12 months. The collected eggs were artificially incubated under controlled conditions of temperature and humidity. The period of copulation occurred between November and January and the nesting season was observed between January and April. The incubation period was 9 months with a hatching success of 8.7%; and the percentage of adult mortality was 23.5%. No significant differences in growth between sexes were found, this being a possible strategy of the species to reduce energy costs associated with metabolic maintenance after the reproductive stage.

KEY WORDS. Reproductive biology. Argentine desert tortoise. Hatching success. Artificial incubation.

RESUMEN. *Chelonoidis chilensis* es un quelonio endémico de Argentina, considerado por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) una especie vulnerable debido a que continúa siendo el reptil autóctono más comercializado en el mercado ilegal de mascotas. Actualmente se conoce poco sobre la biología reproductiva de esta tortuga, por ello el objetivo de este trabajo fue contribuir al conocimiento sobre la reproducción y el crecimiento en cautiverio de *C. chilensis.* Se utilizaron animales adultos de ambos sexos, separados en dos lotes reproductivos y se registró mensualmente su crecimiento durante un período de 12 meses. Los huevos recolectados fueron incubados artificialmente bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. El período de cópula ocurrió entre los meses de noviembre y enero, y el periodo de posturas se observó entre enero y abril. Se registró un período de incubación de 9 meses, con un éxito de eclosión del 8,7%; y un porcentaje de mortalidad de ejemplares adultos del 23,5% en el transcurso de un año. No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento entre machos y hembras adultas, siendo posiblemente, una estrategia utilizada por la especie para reducir el consumo de gastos energéticos vinculados al mantenimiento metabólico una vez alcanzada la edad reproductiva.

PALABRAS CLAVES. Biología reproductiva. Tortuga de tierra argentina. Éxito de eclosión. Incubación artificial.

Scientia Interfluvius 6(1-2): 64-73, 2015 Paraná

INTRODUCCIÓN

Chelonoidis chilensis, conocida como tortuga terrestre argentina o tortuga chaqueña, es un quelonio endémico de Argentina. Está asociada a distintos ambientes pertenecientes mayormente a la Provincia Fitogeográfica Chaqueña, Distrito Occidental y en menor medida a la Provincia Fitogeográfica del Monte y ambientes ecotonales con la Provincia Fitogeográfica del Espinal (Cabrera, 1994; Richard, 1999). Sin embargo, por la reciente unificación taxonómica del complejo *C. chilensis* (Fritz *et al*., 2012) se ha ampliado considerablemente su área de distribución, encontrándose también en provincias del norte de la Patagonia como Neuquén, Río Negro y Chubut (Prado *et al*., 2012a). Las poblaciones del centro y norte de Argentina presentan mayor riqueza genética, mientras que las del sur poseen mayor pureza (Fritz *et al*., 2012).

Las tortugas terrestres son de crecimiento lento con una madurez sexual tardía, existiendo un dimorfismo sexual representado por el tamaño carapacial siendo capaz de alcanzar un largo aproximado de 28 cm en los machos y 32 cm en las hembras (Cabrera, 1998; Richard, 1999). La reproducción se inicia con largos e insistentes cortejos a finales de la primavera, siendo precedida por combates y vocalizaciones rítmicas entre machos, que se extienden hasta el verano (Waller *et al*., 1989; Ernst, 1998; Chebez, 2008).

La destrucción y fragmentación del bosque chaqueño en el centro y norte del país por la expansión de la frontera agrícola-ganadera disminuyen drásticamente el hábitat natural de estos quelonios (Richard *et al*., 2010; Prado *et al*., 2012b). Por otro lado, y debido a que continúa siendo el reptil autóctono más comercializado en el mercado ilegal de mascotas, es considerada actualmente por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) una especie vulnerable (IUCN Red List, 2012; Prado *et al*., 2012b) y se encuentra en el Apéndice II de CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre). Por todas estas causas, investigaciones previas aseguran que las poblaciones argentinas de tortugas de tierra están bajo una presión significativa que puede desembocar en una dramática disminución de sus individuos si no se desarrolla un plan de gestión para su conservación (Waller *et al*., 1989).

En Argentina existe un importante número de tortugas de tierra en centros de rescate o rehabili-

INTRODUCTION

Chelonoidis chilensis, known as Argentine desert tortoise or Chaco´s tortoise is endemic of Argentina. It is associated in different habitats belonging principally to the Phytogeographyc Province of Chaco, Western District and in a lesser measure in the Phytogeographyc Province of Monte and ecotonal environments with the Phytogeographyc Province of Espinal (Cabrera, 1994; Richard, 1999). However, due to the recent taxonomic unification of the *C. chilensis* complex (Fritz *et al*., 2012), its area of distribution has been considerably extended and is now also found in the provinces North of the Patagonia such as Neuquén, Río Negro and Chubut (Prado *et al*., 2012a). Populations of the centre and north of Argentina present a higher genetic richness while those of the South are more pure (Fritz *et al*., 2012).

The Argentine desert tortoise has a slow growth with late sexual maturity and a sexual dimorphism represented by the size of its shell which is capable of reaching a length of approximately 28 cm in males and 32 cm in females (Cabrera, 1998; Richard, 1999). Reproduction is initiated with long and insistent courtships at the end of spring, preceded by fights and rhythmic vocalizations between males which extend to summer (Waller *et al*., 1989; Ernst, 1998; Chebez, 2008).

The destruction and fragmentation of the Chaco forest in the centre and North of the country by the expansion of the agricultural and livestock frontier drastically reduces the natural habitat of these chelonians (Richard *et al*., 2010; Prado *et al*., 2012b). On the other hand, due to the fact that it is the native reptile most traded in the illegal pet market, it is presently considered a vulnerable species by the IUCN (IUCN Red List, 2012; Prado *et al*., 2012b) and it is found in the Appendix II of CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora). For all these reasons, previous research ascertained that the Argentine populations of desert tortoises are under significant pressure that can end in a dramatic diminishing of its individuals if a management plan is not developed for its conservation (Waller *et al*., 1989).

In Argentina there are an important number of tortoises in rescue or rehabilitation centres set up owing to the confiscations carried out by different police institutions or other governmental organisms. On the other hand, the dismal conditions to which the animals are exposed during transport and their illegal trade (Richard *et al*., 2010) together with the

Scientia Interfluvius 6(1-2): 64-73, 2015 Paraná

tación debido al decomiso realizado por diferentes estamentos policiales u otros organismos gubernamentales. Por otra parte, las malas condiciones a las que se exponen a los animales durante su traslado y venta ilegal (Richard *et al*., 2010) y la insuficiente, e incluso errada, información referente a su crianza en cautiverio, produce una importante pérdida de ejemplares, y haría peligrar aún más la viabilidad de la especie (Waller *et al*., 1989).

Pese a su estado de conservación, la información disponible sobre su ecología general continúa siendo muy escasa. Por lo tanto, con el objetivo de profundizar los conocimientos sobre la biología general y reproductiva de este quelonio, se propuso realizar un seguimiento de ejemplares adultos en condiciones de cautiverio durante 12 meses para evaluar el crecimiento en peso y algunos aspectos reproductivos (cortejo, periodo de cópula, periodo de postura, tamaño de postura, periodo de incubación y éxito de eclosión).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 34 ejemplares adultos de *C. chilensis*, 24 hembras y 10 machos, pertenecientes a la estación Zoológica Experimental "Granja La Esmeralda" en la ciudad de Santa Fe, Argentina. Los animales se distribuyeron en dos lotes reproductivos de 12 m2 (densidad de 1,4 individuos/m2), conformado por 12 hembras y 5 machos cada uno (proporción macho: hembra, 1:2,4). Los animales se marcaron con un número pintado a ambos lados del caparazón, permitiendo así su identificación sin interferir en los procesos de cópula y postura.

Durante el experimento se mantuvieron en condiciones de cautiverio en recintos confeccionados con refugios, vegetación y recipientes con agua. El alimento se suministró *ad libitum* tres veces a la semana, consistiendo en una dieta compuesta con verduras, frutas y un molido de pollo mezclado con balanceado para reptiles (Garay®) para el aporte de proteínas en su dieta. A comienzos de la primavera se les suministró además un suplemento vitamínico y mineral (Shulet®) con el fin de mejorar su estado sanitario previo a la época reproductiva. Se registró mensualmente su crecimiento en peso (peso final - peso inicial) durante un período de 12 meses (desde abril 2010 hasta marzo 2011) y se les realizó una revisión veterinaria general para poder detectar posibles enfermedades; identificando también aquellos animales que murieron durante el experimento. Durante la época reproductiva se

insufficient and even erroneous information regarding their growth in captivity produces a significant loss of animals and could further endanger the viability of the species (Waller *et al*., 1989).

Despite its conservation state, the information available on the animal's general ecology continues to be scarce. As such, with the aim of increasing knowledge on the general biology and reproduction of this chelonian, a proposal was made for studying the adult specimens individuals in captivity over 12 months to evaluate growth in weight and some reproductive aspects (courtship, period of copulation, nesting season, clutch size, incubation period and hatching success).

MATERIAL AND METHODS

Adults animals of *C. chilensis* (n = 34), 24 females and 10 males, from the Zoological Experimental Station "Granja La Esmeralda" in Santa Fe city in Argentina were used. The animals were distributed in two reproductive enclosures of 12 m2 (density of 1.4 individuals/m2), composed of 12 females and 5 males in each (proportion male female, 1:2.4). The animals were marked with a number painted on both sides of the shell, thus allowing its identification without interfering with the processes of copulation and position.

They were maintained in conditions of captivity during the experiment in enclosures with refuges, vegetation and recipients with water. Food was given *ad libitum* three times a week, and the diet consisted of vegetables, fruit and a chicken mince with a commercial balanced food for reptiles (Garay®). In addition, at the beginning of spring they were given a vitamin and mineral supplement (Shulet®) aimed at improving their sanitary state prior to the reproductive period. Growth in weight was registered monthly (final weight - initial weight) over a period of 12 months (from April 2010 until March 2011) and a general veterinary revision was carried out to detect possible illnesses, thus the animals that died during the experiment were also identified. Over the reproductive period, the places where females laid eggs were controlled, and these being signalled in each enclosure with wooden stakes. Once the laying was finalized, the eggs were carefully collected and placed in plastic recipients with humid vermiculite under controlled temperature conditions (30 ± 1°C), and a humid environment of 95% for artificial incubation. The initial weight of all the collected eggs was registered before they were placed in the incubator, and the temperature and humidity

controlaron los lugares de posturas de las hembras, señalándolos en cada recinto con estacas de madera. Una vez finalizada la postura, los huevos se recolectaron cuidadosamente y se colocaron en recipientes plásticos con vermiculita húmeda bajo condiciones de temperatura controlada (30 ± 1°C) y humedad ambiente (95%) para su incubación artificial. Se registró el peso inicial de todos los huevos recolectados antes de ingresar a la incubadora y se controló la temperatura y humedad periódicamente. Por otra parte, se realizó el seguimiento de la incubación para evaluar periodo de incubación, el éxito de eclosión, y el tamaño y crecimiento de las crías durante el primer año de vida. La temperatura de incubación fue registrada con termómetro HOBO-Data Loggers (Onset Computer Corporation, Pocasset, MA, USA). Los datos se analizaron con el software SPSS 14.0 (para Windows 2005), utilizando ANOVA de medias repetidas para evaluar el crecimiento en peso a lo largo del tiempo experimental.

RESULTADOS

No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento en peso entre machos y hembras adultas de *C. chilensis* (p = 0,225; Figura I), aunque sí se pudo observar una variabilidad de tamaño entre sexos, presentando los machos un peso promedio menor (1380 ± 184 gr) al registrado en las hembras (1699 ± 250 gr) (Figura II) al final del experimento. Asimismo, tampoco se observaron diferencias significativas de crecimiento en peso entre los lotes reproductivos (p = 0,127). Se registró un porcentaje de mortalidad de ejemplares adultos de *C. chilensis* del 23,5% a lo largo de los 12 meses de experimentación, siendo diferente para cada lote. También

Table I. Mortality of *Chelonoidis chilensis* of the different reproductive enclosures according to sex. (*) The total number of dead animals is expressed in relation to the total number of animals of each sex per enclosure (is seen in brackets).

Tabla I. Mortalidad de *Chelonoidis chilensis* de los diferentes lotes reproductivos según el sexo. (*) Entre paréntesis se expresa la cantidad de animales muertos en relación al total de animales de ese sexo en ese lote.

Lote / Lot	Sexo / Sex	Mortalidad (%) / Mortality (%)
I	MACHOS / MALES	20 % (*1/5)
I	HEMBRAS / FEMALES	42 % (*5/12)
II	MACHOS / MALES	0 % (*0/5)
II	HEMBRAS / FEMALES	16,6 % (*2/12)

was controlled periodically. The following up on incubation was carried out to evaluate the incubation period and hatching success. The size and growth of hatchlings was also controlled over the first year of life. The incubation temperature was registered with a HOBO-Data Logger thermometer (Onset Computer Corporation, Pocasset, MA, USA). The data was analysed with the SPSS 14.0 software (for Windows 2005), using ANOVA of repeated measures to evaluate weight increase over the experimental time period.

RESULTS

Significant growth differences were not found between adult males and females of *C. chilensis* (p = 0.225; Figure I). However, a variability in size between sexes was observed, being a lower weight average in males (1380 ± 184 g) to that which was registered in females (1699 ± 250 g) at the end of the experiment (Figure II). Moreover, significant increases in weight were not observed either in the reproductive enclosures at this stage (p = 0.127). A mortality percentage of adults *C. chilensis* was 23.5%, registered over a length of 12 months of experimentation, and this differed in each enclosure. The mortality percentage also differed in the two enclosures according to sex (Table I). The higher percentage of mortality (75%) was registered in the winter period (between the months of July and August).

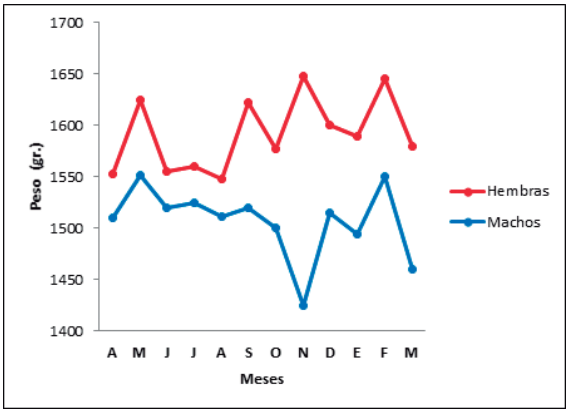


Figure I. Average weight of males and females of Chelonoidis chilensis registered monthly over a period of one year. The registered months were from April (A) 2010 to March (M) 2011.

Figura I. Peso promedio de machos y hembras de Chelonoidis chilensis registrado mensualmente a lo largo de un período de un año. Los meses registrados fueron desde abril (A) 2010 hasta marzo (M) 2011

Scientia Interfluvius 6(1-2): 64-73, 2015 Paraná

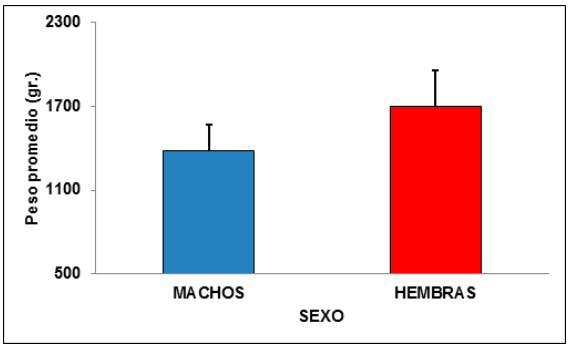


Figure II. Weight (mean and standard deviation) in males and females of Chelonoidis chilensis at the end of the experimentation period

Figura II. Peso promedio y desviación estándar (DE) en machos y hembras de Chelonoidis chilensis al final de la experimentación.



Figure III. Hatchlings of Chelonoidis chilensis born in captivity.

Figura III. Crías de C. chilensis nacidas en cautiverio.

fueron diferentes los porcentajes de mortalidad en los dos lotes según el sexo (Tabla I). La mayoría de las muertes (75%) fueron registradas en época invernal (entre los meses de julio y agosto).

El período de cópula ocurrió durante los meses de noviembre y enero, precedido por el comportamiento de combate entre machos en ambos lotes. A su vez, los machos emitían vocalizaciones graves durante la cópula. El periodo de postura se observó desde finales del mes de enero hasta mediados del mes de abril. Se recolectaron 24 huevos, provenientes del lote II en su totalidad, con un tamaño mínimo de postura de un huevo y máximo de tres. El peso promedio de los huevos fue de 32,3 ± 0,6 gr. Se registró un período de incubación de aproximadamente nueve meses (275 ± 1 días) para los nacimientos, con un éxito de eclosión del 8,7% (2/24). No todos los huevos fueron enterrados por las hembras, encontrando siete de ellos depositados sobre la superficie del recinto. Las crías (Figura III) presentaron un peso promedio de 22,5 ± 3 gr al momento de la eclosión, manifestando un incremento del 50% respecto a su peso inicial una vez finalizado el primer año de vida (Figura IV).

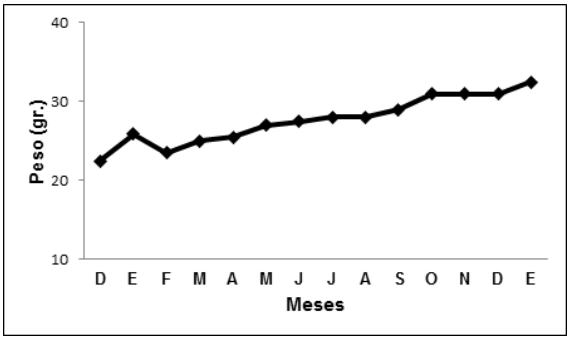


Figure IV. Weight of hatchling of Chelonoidis chilensis born in captivity registered monthly over a one year period, from December (D) 2010 until January (J) 2012.

Figura IV. Peso de crías de Chelonoidis chilensis nacidas en cautiverio registrado mensualmente a lo largo de un período de un año, desde diciembre (D) de 2010 hasta enero (E) de 2012.

DISCUSIÓN

Los machos y hembras de *C. chilensis* utilizados en este experimento no mostraron diferencias en el crecimiento en peso finalizados los 12 meses que duró el experimento. Posiblemente el periodo de un año de experimentación sea corto para evaluar el crecimiento en peso de un ejemplar adulto en una especie de crecimiento lento. Además, se cree

Period of copulation occurred over the months of November and January and this was preceded by fighting behaviour between males in both enclosures. Furthermore, the males emitted deep vocalisations during the period of copulation. The nesting season was observed from the end of January until the middle of April. The totally eggs (n = 24) were collected from enclosure II, being the smaller clutch composed by one egg and the larger by three eggs. The average weight of the eggs was 32.3 ± 0.6 g. The mean incubation period of the viable eggs (n =2) was approximately nine months (275 ± 1 days), with a hatching success of 8.7% (2/24). Not all of the eggs were buried underground by the females, seven of them being

que el crecimiento de las tortugas de tierra disminuye inversamente con la edad con el fin de evitar mayores gastos energéticos para su mantenimiento una vez alcanzada la edad reproductiva (Hernández, 1997). De esta manera, si consideramos que todos los animales utilizados en este experimento eran adultos, es posible pensar que su tasa de crecimiento, independientemente de la dieta, no haya sido tan marcada durante el tiempo de experimentación. Esto también fue descripto por Karl (1998) en una población de tortugas *Gopherus agassizii* en el desierto de Mojave (EE.UU), donde la tasa de crecimiento muestra una disminución con la edad, aunque siempre es mayor en machos que en hembras, debido a que las hembras comienzan a invertir mayor energía en la reproducción. Sin embargo, como se puede apreciar en la Figura I, a partir del mes de septiembre y hasta el mes de noviembre, los machos muestran una disminución marcada en el peso. Posiblemente, con el comienzo de las disputas por las hembras, los machos reducen su alimentación debido a que su comportamiento está focalizado en la reproducción, o bien, el comportamiento asociado a la cópula origina un gasto energético mayor produciendo una disminución en el peso. Sin embargo, se pudo observar una diferencia de tamaño entre machos y hembras (graficado en la Figura II), ya descripto y caracterizado en la especie (Ernst, 1998; Richard, 1999). De acuerdo con lo observado, para fines reproductivos en cautiverio, debería reducirse la proporción de machos en cada recinto reproductivo minimizando así las disputas y provocando, por un lado un aumento en el peso y, por otro, una mayor inversión de tiempo en la reproducción.

A pesar de los controles sanitarios y cuidados veterinarios realizados en ambos lotes, el porcentaje de mortalidad fue mayor en el lote I, superando el 30% de los animales, y afectó por igual a machos y hembras en ese recinto. Posiblemente, y por tratarse de una especie ectotérmica, las bajas temperaturas hayan influido en la tasa de mortalidad de los individuos de ese lote, o bien haya existido algún tipo de enfermedad entre los animales que no se pudo detectar en el transcurso del experimento, o quizás una combinación entre ambos factores. Según Allen & Ullrey (2004), una alimentación adecuada es fundamental para la viabilidad de óvulos y espermatozoides, y para el desarrollo de los embriones dentro del huevo. Debido al desconocimiento de la procedencia de estos animales

found on the surface of the enclosure. The hatchlings (Figure III) had an average weight of 22.5 ± 3 g were hatch, showing after the first year of life an increase of 50% compared to its initial weight (Figure IV).

DISCUSSION

Males and females of *C. chilensis* used in this experiment did not show differences in growth in weight at the end of the experiment period of 12 months. It is possible that a period of one year is short to evaluate the growth in weight of an adult animal of slow metabolism. Moreover, it is believed that the growth of the desert tortoise decreases inversely with age in order to reduce energy costs once the reproductive mature is reached (Hernández, 1997). In this manner, if we consider that all the animals used in this experiment were adults, it is possible to think that their growth rate, independent of diet, has not been so marked during experimentation. This was also described by Karl (1998) in a population of *Gopherus agassizii* tortoises in the Mojave Desert, in the USA, where the growth rate shows a decrease with age. Although, it was always higher in males than in females owing to the fact that females begin to invest higher energy in reproduction. However, as can be seen in Figure I, from September until November, the males showed a marked diminution in weight. It could be that with the beginning of the fights for the females, males reduced their food intake due to their behaviour being focalised on reproduction, or rather, that their behaviour associated with copulation causes higher energy expenditure resulting in a weight deduction. On the other hand, a difference in size between males and females can be observed (Figure II), and has already been described and characterized in tortoises (Ernst, 1998; Richard, 1999). According to that, for reproductive aims in captivity, the proportion of males in enclosures should be reduced to minimise disputes, to enhance an increase in weight, and their time invested in reproduction.

Despite the sanitary and veterinary controls carried out in both enclosures, the percentage of mortality was higher in enclosure I, exceeding 30% of the animals, and affected equally males and females. Possibly, as an ectothermic species, low temperatures could have affected the mortality rate in that enclosure; or maybe some disease has existed among animals that could not be detected during the experiment, or also a combination of both factors. According to Allen & Ullrey (2004), an adequate alimentation is fundamental for the viability of ovules and spermatozoids, and for

y a las condiciones a las que estuvieron expuestos durante su captura ilegal, es viable creer en un estado nutricional deficiente que afecte directamente el comportamiento y éxito reproductivo de estos animales.

Algunas investigaciones han sugerido que el rendimiento reproductivo de reptiles se puede ver afectado por la cantidad de alimento disponible, así como también por el tamaño del lote y la densidad de animales (Hernández & Boede, 2000; 2001). Por otra parte, en los reptiles existe una relación causal directa entre el suplemento alimenticio, almacenes de grasa y las gónadas (Crews & Garrick, 1980), reportando que los cuerpos grasos disminuyen en peso debido a la producción de huevos. Por ello, con una mejor alimentación las hembras presentan mayor reserva de grasas y minerales para destinarlos a la producción de huevos. Sin embargo, en este experimento, a pesar de haber mantenido bajo las mismas condiciones ambos lotes, y siendo alimentados con la misma cantidad y calidad de alimento, el éxito reproductivo fue dispar. Sólo se recolectaron huevos en el lote II, habiendo observado comportamientos de cópulas y excavación en las hembras del lote I. Eventualmente esto podría estar asociado al gran porcentaje de mortalidad observado en ese lote, debido posiblemente a que los animales se encontraban con alguna afección sanitaria que impidió que se reprodujeran efectivamente.

Según Waller *et al*. (1989), las hembras de *C. chilensis* pueden realizar hasta tres posturas (separadas una de otra por 30 días) de 1-7 huevos cada una, y la incubación requiere entre 13 y 14 meses en la naturaleza. Sin embargo, en este estudio se encontró una postura mínima de un huevo y máxima de tres huevos en la misma nidada. Este comportamiento puede estar relacionado a las condiciones de cautiverio, que claramente no representan las encontradas por las hembras en su hábitat natural, disminuyendo así su tamaño de postura (Hernández & Boede, 2000). Por otro lado, Fitch (1980) señala que el número de huevos por postura, entre otras estrategias reproductivas, puede variar debido a efectos directos del ambiente sobre los individuos. Sin embargo, el peso de los huevos recolectados en este estudio fue similar con los registrados por Waller *et al*. (1989) en huevos encontrados en ambientes silvestres.

Por otra parte, estudios realizados en *Chelonoidis donosobarrosi* afirman que la incubación en condiciones de cautiverio tiene una duración de 16 meses (Waller *et al*., 1989); sin embargo, el período de incubación registrado en este estudio no excedió los nueve meses lo que podría haber sido resultado de las altas temperaturas que fueron proporcionalmente constantes durante el desarrollo del embrión. Como la procedencia de este animal es desconocida y las condiciones a las que estuvieron expuestos durante su cautiverio ilegal, es posible creer en un estado nutricional deficiente que afecte directamente el comportamiento y éxito reproductivo de estos animales.

Previous research has suggested that the reproductive performance of reptiles can be seen to be affected by the quantity of food available, as well as the enclosure size and the animal's density (Hernández & Boede, 2000; 2001). On the other hand, a direct causal relation between the alimentary supplement and the storing of fat and the gonads exists in reptiles (Crews & Garrick, 1980). It was reported that body fat decrease in weight due to the production of eggs. As such, with improved better nutrition the females will have higher fat reserves and minerals and use these for the eggs production. However, in this experiment, despite having maintained both enclosures in the same conditions, and their being fed with the same quantity and quality of food, their reproductive success was different. Eggs were only collected from enclosure II, and copulation behaviour and excavation by the females had been observed in enclosure I. Eventually, this could be associated with the high mortality percentage of this enclosure, possibly due to the fact that the animals had some sanitary issues that impeded their effective reproduction.

According to Waller *et al.* (1989), females of *C. chilensis* can carry out up to three egg laying sessions (each separated from the other by 30 days) of 1-7 eggs each, and the incubation requires between 13 and 14 months in nature. However, in this study, a minimum of one egg and a maximum of three eggs in the same clutch were found. This behaviour can be related to captivity conditions that are clearly not representative of those that the females would find in the wild (Hernández & Boede, 2000). Furthermore, Fitch (1980) notes that the number of eggs for each clutch, and other reproductive strategies, can vary due to the direct effects of the environment on individuals. However, the weight of collected eggs in this study was similar to those registered by Waller *et al.* (1989) in eggs found in natural habitats.

Moreover, studies carried out in *Chelonoidis donosobarrosi* affirm that incubation in conditions of captivity have a duration of 16 months (Waller *et al*., 1989); however, the period of incubation registered in this study did not exceed nine months which could have been a result of the high temperature conditions that were proportionately constant during the entire

diciones de cautiverio posee una duración de 16 meses (Waller *et al*., 1989); sin embargo, el período de incubación registrado en este trabajo, no superó los nueve meses, pudiendo deberse estos resultados a las condiciones de temperatura elevada y constante proporcionadas durante todo el proceso de incubación. Por el contrario, en la naturaleza los huevos atraviesan varios meses expuestos a bajas temperaturas durante el período invernal (Cabrera, 1998), pudiendo ser una de las causas en el retardo del desarrollo embrionario, y extendiendo así el tiempo de incubación. Sin embargo, cabe aclarar que el éxito de eclosión reportado en este trabajo hace referencia solamente a dos huevos, por lo que sería importante realizar nuevas incubaciones bajo las mismas condiciones y verificar si se mantiene o se extiende el período de incubación a esa temperatura.

Las crías de *C. chilensis* en este experimento mostraron un crecimiento en peso del 50% luego de transcurrido el primer año de vida, a diferencia de los adultos donde su tasa de crecimiento no evidenció una variación significativa durante el período de experimentación. Otras investigaciones han observado que los juveniles, por ser más activos que los adultos, pueden destinar una mayor cantidad de energía al crecimiento; sin embargo, una vez alcanzada la edad adulta comienzan a invertir su energía en la reproducción, siendo su tasa de crecimiento inversamente proporcional a la edad (Hernández, 1997). Por su parte, Waller *et al*. (1989) han registrado una disminución del peso en el primer mes de vida en crías de *C. chilensis*, a diferencia de las crías obtenidas en este estudio, donde el aumento de peso fue constante durante el transcurso del primer año de vida.

Crews & Garrick (1980) afirman que para tener un exitoso programa de recuperación de reptiles en cautiverio se requiere un completo conocimiento de los factores internos y externos que controlan la reproducción. Es por ello que consideramos debería realizarse una selección de animales que no presenten problemas sanitarios o de fertilidad a fin de lograr una reproducción en cautiverio exitosa. Esto se puede determinar conociendo los antecedentes de los animales y seleccionando sólo aquellos con comprobado éxito reproductivo en las temporadas anteriores, ya que estos factores pueden tener un profundo efecto sobre la estructura social y en consecuencia causar cambios desfavorables en la reproducción.

process of incubation. Contrarily to this, in a natural setting, the eggs have to last out many months of exposure to low temperatures during winter period (Cabrera, 1998), and this can be one of the causes of the embryonic delay which thus extends the time of incubation. Although, it must be clarified that the hatching success reported in this study refers only to two eggs, and for that reason new incubations under the same conditions must be performed to verify if the results are maintained or if the period of incubation is longer at the tested temperature.

The hatchlings of *C. chilensis* in this experiment showed a 50% increase in weight at the end of one year, but in contrasting, adult tortoises showed growth rate without a significant variation during the experimental period. Other research has found that the juveniles, being more active than the adults, can allocate a higher amount of energy for growth; however, once they arrive at adulthood, energy begins to be invested in reproduction, and growth rate becomes inversely proportional to age (Hernández, 1997). On the other hand, Waller *et al.* (1989) have registered a lessening of weight in the first year of life in hatchlings of *C. chilensis*, unlike the hatchlings of this study, where the growth in weight was constant during the same period of time.

Crews & Garrick (1980) affirm that to have a successful programme of recuperation of reptiles in captivity, a complete knowledge of the internal and external factors that control reproduction is necessary. For that reason, we consider that a selection of animals without sanitary and fertility problems must be used to achieve successful reproduction in captivity. This can be determined by knowing the precedence of animals, selecting those with verified reproductive success in previous seasons.These factors can have a profound effect on the social structure and consequently cause unfavourable changes in reproduction.

Taking into account the mentioned conditions and considering that this specie has slow growth, low reproduction, and a long incubation period, a greater attention ought to be given to this tortoise who is threatened with extinction. To this, an interdisciplinary work group comprising not only academic institutions but also governmental and non-governmental organizations needs to be formed, to contribute to the generation of information on biological, reproductive and distribution aspects while forbidding the extractive hunting and regularizing the trafficking of this species.

Teniendo en cuenta lo antes mencionado y considerando que es una especie que posee crecimiento lento, baja reproducción y un periodo de incubación largo, debería prestarse mayor atención a esta tortuga que va en camino a desaparecer. Para ello es de suma importancia la formación de un grupo de trabajo interdisciplinar que abarque no sólo a las instituciones académicas sino también a las organizaciones gubernamentales y no gubernamentales, que contribuyan a la generación de información de aspectos biológicos, reproductivos y de distribución; a la vez que permita prohibir la caza extractiva y la regularización de su tráfico.

CONCLUSIONES

- El periodo de incubación bajo condiciones controladas de temperatura y humedad fue de nueve meses.

- El tamaño máximo de postura fue de tres huevos registrado para *C. chilensis* en cautiverio.

- En cuanto al crecimiento en peso, las tortugas nacidas en cautiverio de *C. chilensis* presentan una tasa de crecimiento del 50% respecto a su peso inicial durante el primer año de vida.

- Los resultados obtenidos en este trabajo aportan información sobre el comportamiento reproductivo en cautiverio e incubación artificial de *C. chilensis* que podrían utilizarse para diseñar e implementar planes de manejo y rehabilitación de la especie.

AGRADECIMIENTOS

A las autoridades de la Estación Zoológica Experimental (EZE) "Granja La Esmeralda" por permitirnos realizar el estudio con estos animales y brindarnos el espacio físico para el experimento. A los veterinarios de la mencionada institución: Javier Rafaelli, Antonio Sciabarrasi Bagilet, Daniel Hunziker y Alcides Sensevy por su colaboración en el control sanitario de las tortugas. A los integrantes del Laboratorio de Zoología Aplicada, Anexo Vertebrados - Departamento de Ciencias Naturales (FHUC - UNL/ MASPyMA) que colaboraron con las tareas de alimentación y supervisión de los recintos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allen, M. & Ullrey, D. 2004. Relationships among nutrition and reproduction and relevance for wild animals. *Zoo Biology* 23: 475-487.

Cabrera, A. L. 1994. *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería.* 2a Edición. Acme. Buenos Aires, Argentina, 85 p.

CONCLUSIONS

- The incubation period under controlled conditions of temperature and humidity was nine months.

- The maximum clutch size registered in captivity for *C. chilensis* was three eggs.

- Hatchlings growth weight of *C. chilensis* born in captivity presented a growth rate of 50% during the first year of life.

- The results obtained in this study provide information of reproductive behaviour in captivity and artificial incubation of *C. chilensis* that could be used to design and implement management and rehabilitation plans for this species.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the authorities of the Estación Zoológica Experimental (EZE) "Granja La Esmeralda" for allowing the study on these animals and for lending their premises for the experiment. To the veterinaries of the afore-mentioned institution: Javier Rafaelli, Antonio Sciabarrasi Bagilet, Daniel Hunziker and Alcides Sensevy for their collaboration in the sanitary control of the tortoises. To the members of the Laboratorio de Zoología Aplicada, Anexo Vertebrados - Departamento de Ciencias Naturales (FHUC - UNL/ MASPyMA) who collaborated by feeding and supervising the enclosures.

Cabrera, M. 1998. *Las tortugas continentales de Sudamérica Austral.* Privately printed. Córdoba, Argentina, 108 p.

Chebez, J. C. 2008. *Los que se van: Fauna argentina amenazada*. Tomo 1. Anfibios y Reptiles. 1° Edición. Editorial Albatroz. Buenos Aires, Argentina, 320 p.

Crews, D. & Garrick L. 1980. Methods of inducing reproduction in captive reptiles. En: Murphy, J. & Collins, J. (eds.), *Reproductive Biology and Diseases of Captive Reptiles.* Society for the study of amphibians and reptiles: 49-70.

Ernst, C. H. 1998. *Geochelone chilensis.* Catalogue of American Amphibians and Reptiles, 668: 1-5

Fitch, H. 1980. Reproductive strategies of reptiles. En: Murphy, J. & Collins, J. (eds.), *Reproductive Biology and Diseases of Captive Reptiles.* Society for the study of amphibians and reptiles: 25-32

Fritz, U.; Alcalde, L.; Vargas-Ramírez, M., Goode, E. V., Fabius-Turoblin, D. U. & Praschag, P. 2012. Northern genetic richness and southern purity, but just one species in the *Chelonoidis chilensis* complex. *Zoologica Scripta* 41: 220-232.

Hernández, O. 1997. Reproducción y crecimiento del Morrocoy, *Geochelone (Chelonoidis) carbonaria* (Spix, 1824) (Reptilia, Testudinidae). *Biollania* 13: 165-183.

Hernández, O. & Boede, E. 2000. Efecto de la alimentación sobre el crecimiento y producción de huevos de *Geochelone (Chelonoidis)* carbonaria (Spix, 1824) bajo condiciones de cautiverio. *Acta Biológica Venezuelica* 20 (2): 37-43.

Hernández, O. & Boede, E. 2001. Efectos de la densidad y la proporción de sexos en la reproducción en cautiverio del Morrocoy *Geochelone (Chelonoidis)* carbonaria (Spix, 1824). *Acta Biológica Venezuelica* 21 (2): 29-37.

IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Versión 2012.2. Disponible en: http//www.iucnredlist.org.

Karl, A. 1998. Growth patterns of the desert tortoise in east Mojave pupulation. Twenty-third annual meeting and symposium of the desert tortoise council abstracts. Tucson, Arisona: *www.deserttortoise.org/abs21.html.*

Prado, W.S.; Waller, T.; Albareda, D.; Cabrera, M., Etchepare, E.; Giraudo, A.; González Carman, V.; Prosdocimi, L. & Richard, E. 2012a. Categorización del estado de conservación de las tortugas de la República Argentina. *Cuadernos de Herpetología* 26 (Supl. 1): 375-388.

Prado, W. S.; Waller, T.; Cabrera, M. R.; Etchepare, E. & Richard, E. 2012b. *Chelonoidis chilensis* (Gray, 1870). Tortuga terrestre común. En: Vaira, M (ed.), *Categorización del Estado de Conservación de la Herpetofauna de la República Argentina*. Ficha de los Taxones. Tortugas. *Cuadernos de Herpetología* 26 (Supl. I): 391.

Richard, E. 1999. *Tortugas de las Regiones Áridas de Argentina*. Editorial L.O.L.A. Buenos Aires, Argentina, 200 p.

Richard, E.; Contreras Zapata, D. I. & Richard Contreras, M. E. 2010. Aportes al conocimiento de las estructuras de tráfico de fauna silvestre de Argentina. I. Relevamiento preliminar de la información y estructura interna del mercado.*UNR Ambiental*, 9 (9): 197 – 214.

SPSS para Windows, Version 14.0. 2005. SPSS Inc. Chicago, USA.

Waller, T.; Micucchi, P. & Richard, E. 1989. *Preliminary results of the research on biology, ecology and conservation of the Chelonoidis chilensis (sensu lato) (Gray, 1870) tortoise in Argentina (Testudines: Testudinidae).* K.Z.T., WWF - TRAFFIC Sudamérica and CITES Secretariat Publication: 43 p