

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Dinámica poblacional, comportamiento, estado de salud e impactos antrópicos en lobos marinos de la Isla San Cristóbal:

Hematología del lobo marino (*Zalophus wollebaeki*) en dos colonias de la Isla San Cristóbal, Galápagos.

Jael Martínez Obando

Judith Denkinger, PhD, Directora de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito
para la obtención del título de Licenciatura en Biología

Quito, julio 2014

**Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales**

HOJA DE APROBACION DE TESIS

**Dinámica poblacional, comportamiento, estado de salud e
impactos antrópicos en lobos marinos de la Isla San Cristóbal:**

**Hematología del lobo marino (*Zalophus wollebaeki*) en dos
colonias de la Isla San Cristóbal, Galápagos.**

Jael Martínez Obando

Judith Denkinger, PhD
Directora de Tesis

.....

Diego Cisneros-Heredia, MSc
Coordinador del Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

.....

Stella de la Torre, PhD
Decana del Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

.....

Quito, octubre 2014

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a los dispuestos de la Política. Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitación y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Nombre: Jael Martínez Obando

C. I.: 1715288864

Fecha, Quito, octubre 20 de 2014

AGRADECIMIENTO

Agradezco la colaboración de mi directora de Tesis Judith Denkinger, la asistencia de Gabriel Trueba, el apoyo y el cariño de Cristina Chávez, el socorro y la buena voluntad de Karlita Vasco, la paciencia de Leandro Vaca, el arduo trabajo y buena vibra de Juan García, Maximilian Hirschfield, Nátaly Guevara y Jenny Quijozaca, la risa y la espiritualidad de Marielle Abalo, las películas con Abigail Jan y Hadijah Haji, y al venerable permiso de investigación PC-24-12 “Prevalencia de morvilivirus y transmisión de patógenos virales caninos a la población de lobos marinos en la isla San Cristóbal”.

Agradezco con todo el shunguito a Marcelita y Romulito por el amor, la sabiduría y el trabajo.

DEDICATORIA

A la infinita y preciosa naturaleza, por hacerme saborear la vida.

A Natita, por nunca perder la fe en mí ni en los cuatro.

A los lobos marinos, por enamorarme del mar y de Cristóbal.

RESUMEN

La hematología es una herramienta muy útil que nos permite tener un panorama general sobre la salud total de los animales, además permite diagnosticar varias enfermedades y provee evidencia acerca de la condición inmunológica de los individuos (Dierauf y Gulland, 2001; Cowell et al. 2009). El conocimiento del estado de salud del lobo marino de Galápagos *Zalophus wollebaeki* y el establecimiento de los valores de parámetros sanguíneos podrían ser de gran ayuda debido a que el lobo marino actúa como una especie centinela o bioindicador para los ecosistemas costeros (Alava y Salazar, 2006).

El estudio se llevó a cabo dos colonias de *Z. Wollebaeki* de la isla San Cristóbal; una colonia con gran actividad antropogénica: Bahía Naufragio (0°53'44.27"S 89°36'33.48"O) y una colonia con mínimo impacto humano: Punta Pitt (0°42'36.88"S 89°15'12.02"O).

Se recolectó un total de 60 muestras de sangre de juveniles para realizar los análisis hematológicos, 33 muestras correspondieron a lobos localizados en Bahía Naufragio, en diferentes playas (18 individuos en Zona Naval y Playa de los Marinos, 10 individuos en Playa Mann y 5 individuos en Punta Carola) y 27 muestras corresponden a lobos localizados en Punta Pitt. Las muestras fueron colectadas entre el 3 y el 13 de julio de 2014.

Durante este estudio se ha encontrado diferencias significativas para varios parámetros sanguíneos y la longitud estándar (EL) entre los individuos de la colonia de Bahía Naufragio (mayor impacto humano) y la colonia de Punta Pitt (menor intervención antropogénica), lo que sugiere que la presencia de humanos y sus actividades influyen en el tamaño y estado de salud de *Z. wollebaeki*.

Palabras clave:

Hematología, parámetros sanguíneos, impacto humano, salud, *Zalophus wollebaeki*.

ABSTRACT

Hematology is a very useful tool that allows us to have an overview of the overall health of animals and let us diagnose various diseases, also it provides evidence on the immune status of individuals (Dierauf and Gulland, 2001; Cowell et al 2009). The knowledge of Galapagos sea lion *Zalophus wollebaeki* health status and the establishment of blood parameters values could be helpful as the Galapagos sea lion acts as a sentinel species or coastal ecosystems bioindicator (Alava and Salazar, 2006).

The study was conducted in two colonies of *Z. wollebaeki* in San Cristobal island, a high anthropogenic activity colony: Shipwreck Bay (0 ° 53'44.27 "S 89 ° 36'33.48" O) and a colony with minimal human impact: Punta Pitt (0 ° 42'36.88 "S 89° 15'12.02" O).

A total of 60 blood samples from juveniles were collected for hematological analysis, 33 samples corresponded to sea lions located at Shipwreck Bay, at different beaches (18 individuals from Zona Naval and Playa de los Marineros, 10 individuals from Playa Mann and 5 individuals from Punta Carola) and 27 samples were taken from sea lions located in Punta Pitt. Samples were collected between the 3rd and 13th of July, 2014.

The study demonstrate significant differences for various blood parameters and standard length (EL) between individuals of the colony of Shipwreck Bay (greater human impact) and the colony of Punta Pitt (less anthropogenic intervention), this suggests that the human presence and its activities influence the size and health of *Z. wollebaeki*.

Key words:

Hematology, blood parameters, human impact, health, *Zalophus wollebaeki*.

TABLA DE CONTENIDO

Tabla de contenido	9
1. Introducción.....	10
2. Justificación.....	13
3. Objetivos.....	14
3.1. Objetivos generales.....	14
3.2. Objetivos específicos.....	14
4. Área de estudio.....	15
5. Materiales y Métodos.....	16
5.1. Materiales.....	16
5.1.1. Obtención de muestras.....	16
5.1.2. Registro morfométrico.....	17
5.1.3. Conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos.....	17
5.1.4. Contaje diferencial de glóbulos blancos.....	17
5.1.5. Hematocrito.....	18
5.1.6. Análisis estadísticos.....	19
5.2. Métodos.....	19
5.2.1. Obtención de muestras.....	21
5.2.2. Conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos.....	21
5.2.3. Contaje diferencial de glóbulos blancos.....	21
5.2.4. Hematocrito.....	22
5.2.5. Valores calculados mediante fórmulas de cálculo.....	23
5.2.6. Análisis estadísticos.....	24
6. Resultados.....	25
6.1. Conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos.....	25
6.2. Contaje diferencial de glóbulos blancos.....	25
6.3. Hematocrito.....	25
6.4. Valores determinados mediante fórmulas de cálculo.....	26
7. Discusión.....	28
8. Conclusiones.....	32
9. Recomendaciones.....	33
10. Bibliografía.....	34
11. Tablas.....	37
12. Figuras.....	44

1. Introducción

En el mar se acumulan contaminantes de escorrentía procedente de actividades urbanas, industriales y agrícolas, estas sustancias químicas se entremezclan y bioacumulan en la cadena alimentaria, como consecuencia se concentran en animales con niveles tróficos más altos, como es el caso del lobo marino de Galápagos *Zalophus wollebaeki* (Marine Mammal Commission, 1998; Samara, 2007). Además, la modificación constante, dramática y veloz de los ecosistemas por parte de los humanos junto a la contaminación ponen en riesgo la salud de las especies que habitan las costas incluyendo la especie humana (Alava et al. 2006; Brock, et al. 2012)

En las colonias reproductivas del archipiélago se han llevado a cabo varios monitoreos para conocer las condiciones de salud en las que se encuentra la población de lobos marinos (mediciones y caracterización de tóxicos bioacumulables como bifenilos policlorados (PCBs), éteres difenilos polibromados (PBDE) y dibenzofuranos policlorados (PCDF) (Alava et al. 2009), efectos dediclorofenilcloroetano (DDT) (Alava et al. 2011), infecciones por leptospirosis (Acevedo-Whitehouse, et al. 2003) y por rotavirus (Coria-Galindo et al. 2009), presencia de parásitos (Daily et al. 2005), valoraciones de salud y estado inmunológico (Paras et al. 2003; Actis, 2012; Brock et al. 2012), estos estudios han mostrado varias anomalías en el estado de salud de *Z. wollebaeki*.

La hematología es una herramienta muy útil que nos permite tener un panorama general sobre la salud total de los animales, además permite diagnosticar varias enfermedades y provee evidencia acerca de la condición inmunológica de los individuos (Dierauf y Gulland, 2001; Cowell et al. 2009). Mediante el análisis sanguíneo se obtiene información detallada sobre las de células presentes en la sangre, estas cumplen dos funciones importantes que son el transporte de oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2), y la protección inmunológica frente a agentes extraños. Los glóbulos rojos (también llamados eritrocito o hematíes) presentan hemoglobina que es una proteína conjugada que se combina reversiblemente con el O_2 y el CO_2 , de esta manera los glóbulos rojos se encargan del transporte gaseoso.

La cantidad de glóbulos rojos permite determinar parámetros sanguíneos como el contaje glóbulos rojos (RBC) y valores determinados mediante fórmula de cálculo

como son: hemoglobina (Hb), valor corpuscular medio (VCM), concentración hemoglobina corpuscular media (CHCM) y hemoglobina corpuscular media (HCM). Estos valores indican anemias, policitemias, deficiencias nutricionales (vitaminas y minerales), problemas renales, pulmonares y de médula ósea (Davey y Henry, 2007).

La cantidad de glóbulos blancos (también llamados leucocitos) determina la capacidad para combatir infecciones. Existen cinco tipos de glóbulos blancos: (1) Los neutrófilos forman parte del sistema inmunitario innato, por lo que atacan de manera rápida e inespecífica a agentes infecciosos; (2) Los linfocitos están involucrados en la respuesta del sistema inmunológico adaptativo, producen anticuerpos que reconocen y responden específicamente a agentes infecciosos; (3) Los eosinófilos están asociados a la respuesta inmune frente a macroparásitos y alergias, un número elevado de eosinófilos o eosinofilia indica presencia de parásitos o alergias; (4) Los basófilos se encargan de iniciar el proceso de inflamación para combatir irritación o lesiones; (5) Los monocitos fagocitan microorganismos extraños, células muertas y células viejas (Davey y Henry, 2007; Brock et al. 2012).

El conocimiento del estado de salud del lobo marino de Galápagos y el establecimiento de los valores de parámetros sanguíneos podrían ser de gran ayuda debido a que el lobo marino actúa como una especie centinela o bioindicador para los ecosistemas costeros (Alava y Salazar, 2006).

El lobo marino de Galápagos *Zalophus wollebaeki* es una especie endémica de las islas y en el 2008 la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) lo declaró como especie en peligro de extinción por su distribución limitada al archipiélago, la fluctuación poblacional que sufren las colonias y su descenso demográfico en las últimas cuatro décadas (Aurioles y Trillmich 2008). Las principales causas para la disminución de población se debe a la escasez de alimento por condiciones ambientales como el fenómeno de El Niño y a actividades antropogénicas (Salazar 2005; Alva y Salazar 2006; Brock et al. 2012)

Se estima que en la isla de San Cristóbal habita el 13% de la población de lobos marinos del archipiélago, este porcentaje está distribuido en cinco colonias reproductivas permanentes en los lugares de: La Lobería, Isla Lobos, El Malecón, Cerro Brujo y Punta Pitt (Alava y Salazar, 2006). La colonia más grande, aproximadamente 500 individuos en capacidad reproductiva, y la que presenta mayor impacto antropogénico se encuentra en Playa de los Marinos localizada cerca de El Malecón en Bahía Naufragio; los lobos de este sitio se relacionan con los humanos por contacto directo, además de estar expuestos a animales domésticos y desechos (Denkinger et al. 2012; Brock et al. 2012). Esto da lugar a

la producción de brotes de enfermedad y epidemias que pueden afectar gravemente el estado poblacional y supervivencia de *Z. wolfebaeki* (Denkinger et al. 2012).

2. Justificación

Para la conservación del lobo marino de Galápagos (*Zalophus wolfebaeki*) es importante establecer una línea base sobre el estado de salud y establecer si existen diferencias en cuanto a la salud de los animales que habitan colonias gravemente afectadas por el impacto humano de colonias con menor intervención antropogénica. La población de San Cristóbal es de aproximadamente 7500 personas (INEC, 2010). La mayoría de la población está ubicada en Bahía Naufragio, el área urbana de la isla y lugar donde se encuentra una de las colonias más grandes de San Cristóbal. En Punta Pitt se encuentra otra colonia importante, aquí existe muy poca intervención humana debido a que esta no es un zona habitada (Fietz 2012).

Los hemogramas son exámenes de diagnóstico básico porque permiten evaluar el estado general la salud de los animales y pueden ser utilizados como una referencia cuantitativa (Dierauf y Gulland, 2001; Davey y Henry, 2007; Cowell et al. 2009). La sangre, al ser un fluido que recorre todo el cuerpo transportando oxígeno y nutrientes, además de ser de vital influencia sobre el tiempo de buceo del lobo marino de Galápagos, presenta información valiosa sobre la salud de un individuo y da a conocer la existencia de afecciones como leucemias, linfomas, anemias, alergias, infecciones, procesos virales, parasitosis, entre otros (Dierauf y Gulland, 2001).

3. Objetivos

3.1. Objetivos generales

Establecer una línea base sobre el estado de salud general para dos colonias de lobo marino, *Zalophus wolfebaeki*, con diferente impacto humano en la Isla San Cristóbal

3.2. Objetivos específicos

- Establecer valores para recuento leucocitario (WBC x10⁹/l) y eritrocitario (RBCx10¹²/l), conteo diferencial de glóbulos blancos, valores de

hematocrito en porcentaje, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular medio y concentración de hemoglobina corpuscular media.

- Comparar los valores obtenidos para los diferentes parámetros entre las dos colonias e identificar si existen diferencias entre sitios urbanos y sitios no intervenidos.

4. Área de estudio

San Cristóbal es una de las 15 islas principales que conforman el archipiélago de Galápagos, ubicado a 960 km de la costa de Ecuador continental. Las islas se caracterizan por su origen volcánico. También se ven favorecidas porque en ellas confluyen tres corrientes oceanográficas importantes que vuelven sus agua ricas y diversas, la Corriente de Humbolt que proviene desde el sur, la Corriente Superficial Surecuatorial desde el este y la Corriente Submarina de Cromwell (Jackson, 1997; Palacios, 2002).

El estudio se llevó a cabo en la isla San Cristóbal en las colonias de Bahía Naufragio ($0^{\circ}53'44.27''S$ $89^{\circ}36'33.48''O$) y Punta Pitt ($0^{\circ}42'36.88''S$ $89^{\circ}15'12.02''O$) (Fig 1). Las muestras fueron colectadas entre el 3 y el 13 de julio de 2014. Bahía Naufragio está compuesta por cinco playas de arena, algunos parches rocosos y la estructura del malecón. Esta zona se caracteriza por la presencia de turistas, locales, barcos, animales domésticos, además de que desembocan las aguas servidas de San Cristóbal. Por otra parte, Punta Pitt se encuentra alejada de la población en el extremo este de la isla. Presenta una playa ovalada de aproximadamente 90 metros (<http://www.galapagospark.org/>; Google Maps, 2013).

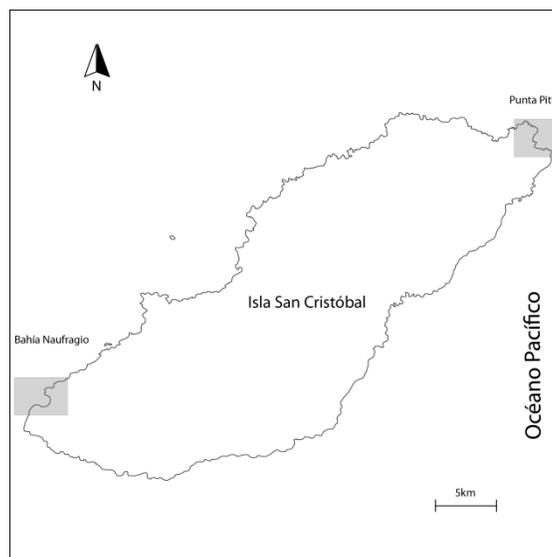


Fig 1. Mapa de la Isla de San Cristóbal y las dos colonias de lobo marino estudiadas:
Bahía Naufragio y Punta Pitt.

5. Materiales y Métodos

5.1. Materiales

5.1.1. Obtención de muestras

5.1.1.1 Sujeción

- Redes
- Personal de apoyo
- Franela

5.1.1.2 Marcaje

- Tijeras
- Ficha de registro
- Lápiz
- Cámara de fotos

5.1.1.3 Toma de muestras de sangre

- Jeringas de 10 cc
- Agujas hipodérmicas 21G x 1 (heparinizadas)
- Alcohol antiséptico 70%
- Torundas sumergidas en Alcohol al 70%
- Torundas de algodón secas
- Tubos EDTA
- Tubos tapa roja
- Heparina
- Guantes

5.1.2 Registro morfométrico

- Metro
- Ficha de registro
- Lápiz
- Cámara de fotos

5.1.3. Conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos

- Cámara de Neubauer
- Microscopio
- Cubreobjetos
- Pipetas de Thoma para glóbulos blancos y glóbulos rojos
- Solución para glóbulos rojos (Citrato)
- Solución para glóbulos blancos (Leucotest)

- Puntas para micropipetas
- Juego de micropipetas
- Guantes

5.1.4. Contaje diferencial de glóbulos blancos

- Microscopio
- Aceite de inmersión
- Frotis sanguíneo (portaobjetos)
- Tinción Wright.
- Agua bidestilada
- Guantes

5.1.5. Hematocrito

- Microcapilar
- Plastilina
- Algodón
- Tubos Falcon
- Centrifuga
- Guantes

5.1.6. Análisis Estadísticos

Los resultados de las muestras obtenidas se analizaron mediante el programa IBM SPSS Statistics 22.0 (se realizaron análisis de varianza ANOVA y análisis multivariado MANOVA) para establecer una línea base sobre el estado de salud de los lobos marinos de las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt, además de establecer si existen diferencias en cuanto a la salud debido a la diferencia de impacto humano entre las colonias. Se trabajó con un valor de 0.05 para p.

5.2. Métodos

5.2.1. Obtención de muestras

Se recolectó un total de 60 muestras de sangre para realizar los análisis hematológicos, 33 muestras correspondieron a lobos localizados en Bahía Naufragio, en diferentes playas (18 individuos en Zona Naval y Playa de los Marinos, 10 individuos en Playa Mann y 5 individuos en Punta Carola) y 27 muestras corresponden a lobos localizados en Punta Pitt. Se capturó únicamente juveniles con redes cónicas especiales para captura de pinnípedos. Posteriormente se sujetó e inmovilizó a los animales manualmente entre cuatro

personas: se cubrió la cabeza con una tela de franela para tranquilizar al animal, se sujetó las aletas pectorales haciendo presión, colocándolas hacia el dorso del animal; se sujetó las aletas posteriores y la pelvis. No se empleó anestésicos ni tranquilizantes durante la manipulación de los animales.

Una vez sujetos el animal se tomó medidas de: longitud estándar (EL), longitud curvilínea (CL), longitud aleta anterior (LFF), longitud aleta posterior (LHF), circunferencia axilar (AxL), circunferencia máxima (UG) y circunferencia anal (AL). Se colectó aproximadamente 5ml de sangre de la vena glúteo-caudal, por cada animal. Se empleó jeringuillas con agujas hipodérmicas de 21G x 1. Se heparinizó a las agujas para evitar la coagulación de la sangre mientras esta era extraída. El sitio de venopunción fue desinfectado con torundas de algodón y alcohol al 70% antes y después de la recolección de las muestras. La sangre recolectada fue transferida a tubos con EDTA que fueron conservados en refrigeración hasta su análisis en el laboratorio. Simultáneamente se realizó tres frotis sanguíneos por cada muestra de sangre, una vez secos fueron almacenados en cajas porta objetos. En el caso de las muestras recogidas en Bahía Naufragio, la sangre fue refrigerada entre 4 y 8 horas; las muestras recogidas en Punta Pitt fueron refrigeradas entre 12 y 40 horas.

Una vez que las muestras fueron llevadas al laboratorio se midió los valores de hematocrito mediante centrifugación (12 298 fuerzas centrifuga relativas RCF), recuento eritrocitario y leucocitario mediante la cámara de Neubauer, recuento leucocitario diferencial por medio de frotis sanguíneo utilizando tinción Wright, y mediante fórmulas de cálculo se determinó valores de hemoglobina (Hb), Volumen Corpuscular Medio (VCM), Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

5.2.2. Contaje de glóbulos blancos y glóbulos rojos

Para el recuento total de eritrocitos se utilizó una pipeta de Thoma con la que se aspiró la sangre hasta la marca (0.5 ml). Se limpió la parte externa de la pipeta y se aspiró la solución para glóbulos rojos (citrato) hasta la marca (101), esto permite obtener una dilución 1:200. La solución se mezcló durante 2 minutos (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

Se descartó las primeras gotas y se limpió la parte externa de la pipeta. Se llenó la cámara de Neubauer por capilaridad. Se esperó 3 minutos y se eliminó cualquier burbuja de aire que se haya formado.

Para determinar la cantidad de glóbulos rojos se utilizó el lente de 40 X, se hizo el recuento mediante el método manual (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

Para el recuento de leucocitos se llevó a cabo el mismo procedimiento que para el recuento de eritrocitos empleando la solución para glóbulos blancos (Leucotest). El recuento de glóbulos blancos en la cámara de Neubauer se realizó en los nueve cuadros grandes y se multiplica por 1.1 y por 200 (se expresa leucocitos / ul) (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

5.2.3. Contaje diferencial de glóbulos blancos

Se utilizó tinción Wright para colorar los frotis sanguíneos: 4 minutos de coloración, luego se extendió suavemente agua bidestilada por 4 minutos y finalmente se lavó los frotis (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007). Se hizo un contaje de 100 leucocitos consecutivos, estos leucocitos fueron clasificados en neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, basófilos y monocitos. Los resultados se expresan en porcentajes de cada tipo de leucocito que se observó durante el recuento (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

5.2.4. Hematocrito

Se homogenizó la sangre en el tubo con EDTA y se llenó tres cuartas partes del tubo capilar. El tubo se llena por capilaridad. Se limpia el capilar de los residuos de sangre y se tapó un extremo con plastilina. El procedimiento se hizo por triplicado. Los tubos capilares fueron colocados individualmente dentro tubos Falcon. Para asegurarlos, se colocó una cama plana de algodón en la base y en las paredes de cada tubo Falcon. Los tubos fueron tapados y colocados en la centrifuga a 12 298 RCF Se midió el hematocrito con un calibrador la longitud total (plasmas + células) y la parte corpuscular. Con los datos se calculó el hematocrito aplicando la fórmula (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007):

$$\text{Hematocrito} = \frac{\text{Parte corpuscular}}{\text{Longitud Total}} \times 100$$

5.2.5. Valores determinados mediante fórmulas de cálculo

Hemoglobina (Hb) (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

$$Hb = \frac{\text{Hematocrito (\%)}}{3}$$

Volumen Corpuscular Medio (VCM) (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

$$VCM = \frac{\text{Hematocrito (\%)} \times 10}{\text{Eritrocitos } \left(\frac{\text{millones}}{\text{mm}^3 \text{ sangre}} \right)}$$

Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

$$CHC = \frac{\text{Hemoglobina } \left(\frac{\text{g}}{100\text{ml}} \right) \times 100}{\text{Hematocrito (\%)}}$$

Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) (Davey y Henry 2007; Campuzano 2007).

$$HCM = \frac{Hb \times 100}{\text{Hematocrito (\%)}}$$

5.2.6. Análisis estadísticos

Para comparar el número de glóbulos blancos y glóbulos rojos por microlitro entre las dos colonias, así como entre hembras y machos de una misma colonia y entre ambas colonias se utilizó el análisis de varianza (ANOVA).

El conteo diferencial de glóbulos blancos fue analizado mediante análisis multivariado (MANOVA), se comparó el porcentaje de neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos y basófilos entre ambas colonias, así como entre hembras y machos de una misma colonia y entre ambas colonias.

Los porcentajes de hematocrito y los valores determinados mediante fórmulas de cálculo fueron analizados con el análisis de varianza (ANOVA), se compararon tanto los porcentajes de hematocrito como los valores determinados mediante fórmulas de cálculo entre las dos colonias, así como entre hembras y machos de una misma colonia y entre ambas colonias.

6. Resultados

6.1. Conteo de glóbulos blancos y glóbulos rojos

La cantidad de glóbulos rojos y blancos varió de acuerdo al sexo y colonia de los individuos (Tabla 1), sin embargo solo hubo diferencias significativas entre los valores de recuento de glóbulos rojos entre las colonias ($F= 14.761$, $gl= 1$, $p= 0.000334$) (Tabla 2) (Fig 2).

6.2. Contaje diferencial de glóbulos blancos

El porcentaje de los cinco tipos de glóbulos blancos varió de acuerdo al sexo y colonia de los individuos (Tabla 1). Se encontró diferencias significativas entre colonia ($F= 3.3343$, $gl=1$, $p=0.012$) (Fig 3). Específicamente se encontró diferencias significativas para el porcentaje de neutrófilos ($F= 4.801$, $gl=1$, $p=0.033$) y monocitos ($F=11.612$, $gl=1$, $p=0.001$), Bahía Naufragio fue la colonia que presentó valores mayores (Tabla 4) (Fig 3).

6.3. Hematocrito

El valor de hematocrito difirió significativamente entre las colonias de Punta Pitt y Bahía Naufragio ($F= 21.166$, $gl= 1$, $p= 0.000028$) (Tabla 5) (Fig4). De manera no significativa, el hematocrito presentó diferentes valores de acuerdo al sexo en las colonias. Las hembras de la colonia de Punta Pitt presentaron valores mayores (67.091 ± 8.669 %) a las hembras de la colonia de Bahía Naufragio (60.356 ± 6.155 %); igualmente los machos de la colonia de Punta Pitt presentaron valores mayores (71.408 ± 11.231 %) a los machos de la colonia de Bahía Naufragio (55.809 ± 8.23 %) (Tabla 1).

6.4 Valores determinados mediante fórmulas de cálculo

Hemoglobinemia

El valor encontrado para la hemoglobina fue significativamente diferente entre ambas colonias, Punta Pitt fue la colonia que presentó valores mayores ($F= 21.166$, $gl= 1$, $p= 0.000028$) (Tabla 6) (Fig5). Los valores para hembras y machos fueron distintos para cada colonia pero no fueron significativos (Tabla 1).

Volumen Corpuscular Medio (VCM)

No se encontró diferencias significativas entre los sexos, ni entre la interacción entre factores sexo y colonia (Tabla 1) Se encontró diferencias significativas entre el volumen corpuscular medio entre las colonias, Bahía Naufragio fue la colonia que presentó valores mayores ($F= 6.247$, $gl= 1$, $p=0.015697$) (Tabla 7) (Fig 6).

Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)

No se encontró diferencias significativas entre los sexos, entre las colonias ni entre la interacción entre factores sexo y colonia (Tabla 1 y 8) (Fig 7 y 8).

Hemoglobina Corpuscular Media (HCM)

Existen valores distintos pero no significativos para los diferentes sexos en las colonias (Tabla 1). Se encontraron diferencias significativas entre el volumen corpuscular medio entre las colonias, Bahía Naufragio fue la colonia que presentó valores mayores ($F= 6.247$, $gl= 1$, $p=0.015697$) (Tabla 9) (Fig 9).

Longitud estándar

Se comparó la longitud estándar entre los 60 individuos estudiados (14 hembras y 19 machos para Bahía Naufragio, y 16 hembras y 11 machos en Punta Pitt) y se encontró una diferencia significativa entre las colonias, Punta Pitt fue la colonia que presentó individuos de mayor tamaño ($F=4.930$, $gl=1$, $p=0.031$) (Tabla 10) (Fig 10).

7. Discusión

Durante este estudio se ha encontrado diferencias significativas para varios parámetros sanguíneos y la longitud estándar (EL) entre los individuos de la colonia de Bahía Naufragio (mayor impacto humano) y la colonia de Punta Pitt (menor intervención antropogénica), lo que sugiere que la presencia de humanos y sus actividades influyen en el tamaño y estado de salud de *Z. wolfebaeki*.

La función principal de los glóbulos rojos es la de transportar oxígeno a los tejidos y recoger el dióxido de carbono del cuerpo. Para facilitar el intercambio de estos gases se emplea una proteína soluble que es capaz de transportar gases, la hemoglobina (Davey y Henry, 2007; Cowell et al. 2009). En el caso del recuento

de glóbulos rojos, porcentaje de hematocrito y cantidad de hemoglobina se encontró una diferencia significativa, los lobos marinos de la colonia de Punta Pitt presentaron valores superiores a los de Bahía Naufragio. De igual manera, la longitud estándar que presentan los individuos de la colonia de Punta Pitt es mayor. Esto pudo significar que existe una relación entre el tamaño y los parámetros sanguíneos mencionados. Los estudios de Holland y Foster (1966) y Prosmilow (1990) muestran que el tamaño y la masa corporal predicen una cantidad significativa en la variación en el recuento de células sanguíneas, el tamaño de las mismas y el contenido de hemoglobina. Una explicación para estos patrones observados es la influencia de las necesidades metabólicas, donde las tasas metabólicas son más bajas para animales más grandes, por lo que la tasa de transporte de oxígeno por volumen de sangre necesita ser más rápido (Holland y Foster, 1966; Promislow, 1990).

La dieta y estrategia de forrajeo son factores que también podrían influir en la hematología y el tamaño de *Z. wolfebaeki*. Thomson et al. (1997) demostró que la diferencia nutricional de las presas y la estrategia de buceo que se emplea para cada una de ellas afectan los parámetros hematológicos de la foca moteada (*Phoca vitulina*). Si bien se ha considerado al lobo marino de Galápagos como un depredador tope con un alto nivel de flexibilidad para sus hábitos de forrajeo, estudios indican que de acuerdo a su ubicación geográfica presenta preferencias alimenticias (Salazar, 2005; Páez-Rosas et al. 2014).

Según el estudio de Páez-Rosas y Aurióles-Gamboa (2010) existen diferencias significativas entre la dieta de tres colonias de lobo marino en la Isla de San Cristóbal. Salazar (2005) y Páez-Rosas y Aurióles-Gamboa (2013) muestran que existen preferencias en la dieta de *Z. wolfebaeki* de acuerdo a las distintas colonias. Las estrategias de forrajeo están vinculadas con variaciones fenotípicas entre los individuos dentro de una población (Páez-Rosas y Aurióles-Gamboa, 2010). La diferencia de tamaño entre los individuos de las dos colonias pueden resultar en diferencias en la capacidad de buceo (Weise y Costa, 2007), que a su vez produce distintas estrategias de buceo y dieta (Wolf et al 2008).

También es posible que las diferencias encontradas para la cantidad de hemoglobina, neutrófilos y monocitos se deban a la presencia de infecciones en los juveniles de *Z. wolfebaeki* de la colonia de Bahía Naufragio, como expone Brock et al (2012). Brock indica en su estudio que la colonia afectada por actividades antropogénicas presentaba mayores niveles de infección o presión inmunoestimulante que la colonia control, lo cual a su vez se vio reflejado en valores mayores de los diferentes parámetros sanguíneos.

Otra causa para la diferencia en la cantidad de hemoglobina, neutrófilos y monocitos puede deberse a la presencia de contaminantes orgánicos y metálicos producidos por actividades humanas en el área costera como la descarga directa de aguas servidas, el vertimiento de desperdicios y la combustión de carburantes de naves en el mar (Kakuschke y Prange, 2007). Los metales pesados son capaces de influenciar la capacidad inmune de las células mediante varios mecanismos. La cantidad de hemoglobina producida puede verse afectada por intoxicación con plomo, que es capaz de bloquear la síntesis del grupo hem de la hemoglobina (Dierauf y Gulland, 2001; Actis, 2012). La presencia de este metal en el mar se debe a las actividades de las embarcaciones y los desechos que producen: residuos de aceites lubricantes, gasolina, pigmentos y esmaltes, así como actividades de fundición y soldadura (Reuer y Weiss, 2002; Gulson et al. 2009). Estudios en varias especies de mamíferos marinos, incluyendo el lobo marino sudamericano *Otaria flavescens*, muestran cómo los monocitos pueden incorporar y almacenar metales pesados, como Mercurio y Selenio, en forma de gránulos minerales; dependiendo de la concentración de metales estos pueden volverse tóxicos para los glóbulos blancos y para el sistema inmunológico (Nigro y Leonzio, 1996).

Otro de los contaminantes que puede intervenir en la actividad inmune de los lobos marinos y causar las diferencias de porcentaje de monocitos y neutrófilos entre las colonias es el Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT). Si bien se desconoce la procedencia exacta del DDT que se encuentra en Galápagos, estudios han mostrado su bioacumulación en el lobo marino y otros animales de vida silvestre (Alava, 2009; Alava et al. 2011; Alava y Páez-Rosas, 2011). La concentración de DDT en *Z. wolfebaeki* encontrado en análisis realizados en el año 2005 y 2008, mostraron un incremento del 86% (Alava et al. 2011), estos valores son muy cercanos a valores que pueden afectar el sistema inmunológico del lobo marino; además no se está tomando en cuenta los efectos aditivos y/o sinérgicos de otros contaminantes (Alava y Páez-Rosas, 2011).

Finalmente se atribuyen estas diferencias en los parámetros hematológicos a la degradación del hábitat y los efectos negativos de la intervención humana. En la colonia de Bahía Naufragio estos cambios podrían estar asociados a una “respuesta de estrés” debido a la continua exposición a la presencia humana y sus actividades (Rebar et al. 2002; Fiets, 2012; Montero-Serra et al. 2014). Fietz (2012) menciona cómo la frecuencia de agresividad en *Z. wolfebaeki* está directamente relacionada con la presencia de humanos a largo plazo; así el nivel de agresividad más bajo fue encontrado en los lobos marinos de la colonia de Punta Pitt. Aunque los lobos marinos de Galápagos presentan una gran adaptación a la convivencia con humanos, la exposición permanente podría

ocasionar un incremento en el nivel de estrés a largo plazo, y afectar la salud y supervivencia de los animales (Fietz, 2012; Montero-Serra et al. 2014).

8. Conclusiones

Es necesario y útil establecer parámetros sanguíneos que nos ayuden a comprender de mejor manera el estado de salud del lobo marino de Galápagos *Zalophus wollebaeki*; especialmente porque se trata de una especie endémica del archipiélago, que se encuentra en peligro de extinción, y además es un bioindicador (Dierauf y Gulland, 2001; Alava y Salazar, 2006 y Aurióles y Trillmich, 2008). Así, se puede prever posibles riesgos que la especie pueda presentar debido a prácticas humanas o cambios en las condiciones ambientales (Brock et al. 2012).

No se encontró diferencias significativas para los parámetros sanguíneos medidos entre los sexos, la principal razón se debe a que los todos individuos analizados eran juveniles. Probablemente las diferencias en los parámetros sanguíneos entre hembras y machos aparecen una vez que los animales hayan alcanzado la madurez.

El estado de salud reflejado en los análisis hematológicos de esta especie bioindicadora puede generar información valiosa para identificar enfermedades y tóxicos presentes en el mar, en peces y mariscos, para alertar a las personas que habitan y realizan actividades recreacionales en estas áreas costeras (Mancia et al. 2011).

9. Recomendaciones

Estudios anteriores sugieren que la medición de hematocrito puede verse afectada por la captura, técnicas de manejo y metodologías en el laboratorio, por lo que los datos de este estudio no deberían ser directamente comparados con otros trabajos si el trabajo de campo y de laboratorio no ha sido realizado de la misma manera (Catellini et al, 1996; Thomson, et al. 1997).

Es necesario realizar futuros trabajos para determinar si existen cambios a nivel eritrocitario y leucocitario debido a diferentes dietas alimenticias en *Zalophus wollebaeki* entre las colonias.

10. Bibliografía

- Acevedo-Whitehouse, K., De la Cueva, H., Gulland, F., Auriolos-Gamboa, D., Arellano-Carbajal, F. y Suarez-Güemes, F. 2003. Evidence of *Leptospira interrogans* infection in California sea lion pups from the Gulf of California. *Journal of Wildlife Diseases*, 39: 145-151.
- Actis, P. 2012. Determinación hematológica del lobo marino (*Zalophus wollebaeki*) en dos colonias del Archipiélago Galápagos. Tesina de grado de licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba.
- Alava, J. y Salazar, S. 2006. Status and conservation of otariids in Ecuador and the Galapagos Islands. En *Sea lions of the world*: 495-520. Trites, A., Atkinson, S., De Master, D., Fritz, L., Gelatt, T., Rea, L. y Wynne, K. (Eds). Alaska: Sea Grant College Program.
- Alava, J., Ikononou, M., Ross, P., Costa, D., Salazar, S., Auriolos-Gamboa, D. y Gobas F. 2009. Polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ether in Galapagos sea lions (*Zalophus wollebaeki*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 28. No. 11: 2271-2282.
- Alava, J., Salazar, S., Cruz, M., Jiménez-Uzcátegui G., Villegas-Atmann, S., Páez-Rosas, D., Costa, D., Ross, P., Ikononou, M., Gobas F. 2011. Polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ether in Galapagos sea lions (*Zalophus wollebaeki*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 28. No. 11: 2271-2282.
- Brock, P., Hall, A., Goodman, S., Cruz, M., y Acevedo-Whitehouse, K. 2012. Applying the tools of ecological immunology to conservation: a test case in the Galapagos sea lion. *Animal Conservation*: 1- 13.
- Campuzano, G. 2007. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. En *La clínica y el laboratorio Módulo 1*. Colombia: Editora Médica Colombiana S. A.
- Coria-Galindo, E., Rangel-Huerta, E., Verdugo-Rodríguez, A., Brousset, D., Salazar, S. y Padilla-Noriega, L. 2009. Rootavirus infection in Galapagos sea lions. *Journal of Wildlife Diseases*, 45: 722-728.
- Cowell, R., Meinkoth, J., Tyler, R. y DeNicola, D. 2009. Diagnóstico citológico y hematológico del perro y el gato. España: Elsevier
- Daily, M., Ellin, R. y Paras, A. 2005. First report of parasites from pinnipeds in the Galapagos Islands, Ecuador, with a description of a new species of *Philophthalmus* (Digenea: Philophthalmidae). *Journal of Parasitology*, 91: 614-617.
- Davey, F. y Henry, J. 2007. Hematología y medicina transfusional. En *laboratorio en el diagnóstico clínico*. Henry, J., Davey, F., Herman, C., McPherson, R., Pincus, M., Threatte, G. y Woods, G. (Eds). España: Marbán.

- Dierauf, L. y Gulland, F. (eds) 2001. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. Estados Unidos: CRC Press.
- Elgar, M. y Harvey, P. 1987. Basal metabolic rates in mammals: allometry, phylogeny and ecology. *Functional Ecology* 1: 25-36
- Fietz, K. 2012. General behavior patterns and human impact on behavior of the Galápagos sea lion (*Zalophus wolfebaeki*) on San Cristóbal, Galápagos. A thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in the Department of Animal Ecology and Conservation at the University of Hamburg, Germany.
- Geraci, J. 1981. Dietary disorders in marine mammals: synthesis and new findings. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 179, 1183-1191
- Gulson, B., Korsch, M., Matison, M., Douglas, C., Gillam, L. y McLaughlin V. 2009. Windblown lead carbonate as the main source of lead in blood of children from a seaside community: An example of local birds as “canaries in the mine”. *Environmental Health Perspectives* 117: 148-154.
- Holden, A. V. 1972. Monitoring organochlorine contamination of the marine environment by the analysis of residues in seals. In M. Ruivo (Eds.), *Marine pollution and sea life* pp. 266-272. London: Food and Agriculture Organization.
- Holland, R. y Foster, R. 1966. The effect size of red cells on the kinetics of their oxygen uptake. *Journal of Genetics Physiology* 49: 71-91.
- Hubalkova, Z., Kralik, P., Tremlova, B. y Rencova, E. 2007. Methods of gadoid fish species identification on food and their economic impact in the Czech Republic: a review. *Veterinarni Medicina* 7: 273- 292
- INEC, 2010. Resultados del Censo 2010 de población y vivienda en el Ecuador. Fascículo Provincial Galápagos. Recuperado en Julio 24, 2014 de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/>
- Jackson, M. 1997. Galápagos, una historia natural. Estados Unidos: University of Calgary Press.
- Kakuschke, A. y Prange, A. 2007. The influence of metal pollution on the immune system a potential stressor for marine mammals in the north sea. *International Journal of Comparative Psychology* 20: 179-193
- Loughlin, T., Perlov, A. y Vladimirov, V. 1992. Range-wide survey and estimation of total number of Steller sea lions in 1989. *Marine Mammal Science* 8: 220- 239.
- Macia, A., Ryan, J., Chapman, R., Wu, Q., Warr, G., Gulland, F., y Van Dolah, F. 2011. Health status, infection and disease in California sea lions (*Zalophus californianus*) studied using a canine microarray platform and machine-learning approaches. *Developmental and Comparative Immunology* 26: 629-637.
- Marine Mammal Commission, 1998. Chapter 22. Toxicology
- Murillo, J. 2010. Manejo de las colonias de lobos marinos, *Zalophus wolfebaeki* en la isla San Cristóbal. Informe Técnico. Parque Nacional Galápagos.

- Montero-Serra, I., Páez-Rosas, D., Murillo, J., Vegas-Vilarrúbia, T., Fietz, K. y Denkinger, J. 2014. ENvironment-driven changes in terrestrial hábitat use and distribution of the Galapagos sea lion. *Endangered Species Research* 24: 9-19
- Nigro, M. y Leonzio, C. 1996. Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. *Marine Ecology Progress Series* 135: 137-143.
- Páez-Rosas, D. y Auriolles-Gamboa, D. 2010. Alimentary niche partitioning in the Galapagos sea lion, *Zalophus wollebaeki*. *Marine Biology* 157: 2769-2781.
- Páez-Rosas, D. y Auriolles-Gamboa, D. 2013. Spatial variation in the foraging behaviour of the Galapagos sea lions (*Zalophus wollebaeki*) assessed using scat collections and stable isotope analysis.
- Páez-Rosas, D., Riofrío-Lazo, M. y Auriolles-Gamboa, D. 2014. Flexibility in the Foraging Strategies of the Galapagos Sea Lion Inferred from a Multiple Approach Analysis. En *The Galapagos Marine Reserve: A Dynamic Social-Ecological System*. Denkinger, J. y Vinueza, L. (eds). Estados Unidos: Springer
- Palacios, D. 2002. Factor influencing the island-mass effect of the Galápagos Islands. *Geophysical Research Letter* 29 (23).
- Paras, A., Brousset, D., Salazar, S., Benites, S., Dailey, M., Cucci, K. y Auriolles, D. 2003. Health assesment of pinnipeds populations fund in the Galapagos. Charles Darwin Research Station Report.
- Promislow, D. 1990. The evolution of mammalian blood parameters: patterns and their interpretation. *Physiological Zoology*, Vol. 64, No. 2. 393-431
- Rebard, A., MacWilliams, P., Feldman, B., Metzeger, F., Pollock, R. y Roche, J. 2002. *Manual de Hematología de perros y gatos*. España: Multimédica, S. A.
- Reuer, M. y Weiss, D. 2002. Anthropogenic lead dynamics in the terrestrial and marine environment. *Astronomy and Earth Science*: 2889-2904. En *Philosophical Transactions: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. Vol 360. No. 1801
- Rosen, D., Hastie, G. y Trites, A. 2004. Searching for stress: Hematological indicators of nutritional inadequacies in Steller Sea Lions. *Proceeding of the Comparative Nutrition Society* 145-149.
- Servicio Parque Nacional Galápagos e Instituto Ecuatoriano Forestal y de Áreas Naturales y Vida Silvestre. 1996. Determinación de la capacidad de carga turística en los sitios de visita del Parque Nacional Galápagos. Parque Nacional Reserva Marina de Galápagos.
- Salazar, S. 2005. Variación temporal y espacial del espectro trófico del lobo marino de Galápagos. MSc thesis. Instituto Politécnico Nacional, La Paz, México.
- Thomson, P., Tollit, D., Corpe, H., Reid, R. y Ross, H. 1997. Changes in haematological parameters in relation to prey switch in a wild population of harbor seals. *Functional Ecology* 11, 743-750.

- Trillmich, F. 2008. Age-related changes in hematocrit in the Galápagos sea lion (*Zalophus wollebaeki*) and the Weddell seal (*Leptonychotes weddellii*). *Marine Mammal Science*, 24 (2): 303-314.
- Villegas-Amtmann, S. y Costa, D. 2010. Oxygen stores plasticity linked to foraging behaviour and pregnancy in a diving predator, the Galapagos sea lion. *Functional Ecology*, 24 (4): 785-795.
- Weise, M. y Costa, D. 2007. Total body oxygen stores and physiological diving capacity of California sea lions as a function of sex and age. *Journal of Experimental Biology* 210: 278-289
- Wolf, J., Harrod, C., Brunner, S., Salazar, S., Trillmich, F., Tautz, D. 2008. Ecological, morphological and genetic divergence of Galapagos sea lion populations as a model for tracing early stages of species differentiation. *BMC evolutionary Biology* 8:150.

11. Tablas

Tabla 1. Valores hematológicos (\pm desviación estándar) de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Glóbulos rojos

	Bahía Naufragio		Punta Pitt	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Hematocrito (%)	60.356 \pm 6.155	55.809 \pm 8.23	67.091 \pm 8.669	71.408 \pm 11.231
Hemoglobina (g/dl)	20.119 \pm 2.052	18.603 \pm 2.743	22.364 \pm 2.889	23.803 \pm 3.744
Glóbulos rojos ($\times 10^6$ /ul)	2.762 \pm 1.425	2.2577 \pm 0.645	4.113 \pm 1.933	3.843 \pm 1.445
VCM (fl)	0.245 \pm 0.077	0.265 \pm 0.075	0.186 \pm 0.077	0.2111 \pm 0.096
HCM (pg)	0.082 \pm 0.0255	0.088 \pm 0.0251	0.062 \pm 0.0258	0.070 \pm 0.0322
CHCM (g/dl)	33.333 \pm 5.889 $\times 10^{-15}$	33.333 \pm 5.202 $\times 10^{-15}$	33.333 \pm 4.847 $\times 10^{-15}$	33.333 \pm 3.523 $\times 10^{-15}$

Glóbulos blancos

Tipos celulares	Bahía Naufragio		Punta Pitt	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Glóbulos blancos (/ul)	62 040 \pm 30	60 141.05 \pm 17	5 212 174 \pm 19 737	108 440 \pm 47
Neutrófilos (%)	55.92 \pm 16.55	48.38 \pm 13.21	49.22 \pm 11.51	52.77 \pm 8.349
Linfocitos (%)	22.75 \pm 12.871	27.21 \pm 9.091	30.78 \pm 10.38	31.73 \pm 9.15
Monocitos (%)	3.50 \pm 2.54	4.11 \pm 4.51	1.21 \pm 1.67	0.82 \pm 0.874
Eosinofilos (%)	16.50 \pm 9.27	17.57 \pm 8.89	16.60 \pm 8.48	11.51 \pm 6.35
Basófilos (%)	2.25 \pm 2.05	2.24 \pm 2.02	4.39 \pm 5.51	2.17 \pm 1.85

Tabla 2. Recuento de glóbulos rojos (\pm desviación estándar) de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	RGR (millón/mm ³)
Bahía Naufragio	Hembra	11	2.762 \pm 1.425
	Macho	19	2.257 \pm 0.645
	Total	30	2.44 \pm 1.01
Punta Pitt	Hembra	15	4.113 \pm 1.933
	Macho	11	3.843 \pm 1.445
	Total	26	3.999 \pm 1.717
Total	Hembra	26	3.541 \pm 1.836
	Macho	30	2.838 \pm 1.257
	Total	56	3.165 \pm 1.578

Tabla 3. Recuento de glóbulos blancos de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	RGR (/ul)
Bahía Naufragio	Hembra	10	62040.000 \pm 30016.991
	Macho	19	60141.052 \pm 17410.986
	Total	29	60795.862 \pm 22030.31
Punta Pitt	Hembra	15	5212174.000 \pm 19737851.549
	Macho	11	108440.000 \pm 47708.785
	Total	26	3052901.923 \pm 14992647.517
Total	Hembra	25	3152120.400 \pm 15293395.039
	Macho	30	77850.667 \pm 39159.094

		1475246.000 ±
Total	55	10312015.589

Tabla 4. Contaje diferencial de glóbulos blancos de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	media ± desviación estándar
Neu %			
Bahía Naufragio	Hembra	12	55.92 ± 16.550
	Macho	17	48.38 ± 13.214
	Total	29	51.50 ± 14.888
Punta Pitt	Hembra	14	49.22 ± 11.513
	Macho	11	53.77 ± 8.349
	Total	25	51.22 ± 10.304
Total	Hembra	26	52.31 ± 14.179
	Macho	28	50.50 ± 11.683
	Total	54	51.37 ± 12.853
Lin %			
Bahía Naufragio	Hembra	12	22.7 ± 12.871
	Macho	17	27.21 ± 9.091
	Total	29	25.37 ± 10.831
Punta Pitt	Hembra	14	30.78 ± 10.375
	Macho	11	31.73 ± 9.151
	Total	25	31.20 ± 9.667
Total	Hembra	26	27.07 ± 12.063
	Macho	28	28.99 ± 9.221
	Total	54	28.07 ± 10.625
Eos %			
Bahía Naufragio	Hembra	12	16.50 ± 9.269
	Macho	17	17.57 ± 8.882
	Total	29	17.13 ± 8.894
Punta Pitt	Hembra	14	16.60 ± 8.481
	Macho	11	11.51 ± 6.346

	Total		25	14.36 ± 7.898
Total	Hembra		26	16.56 ± 8.672
	Macho		28	15.19 ± 8.410
	Total		54	15.85 ± 8.484
<hr/>				
Bas %				
Bahía Naufragio	Hembra		12	2.25 ± 2.050
	Macho		17	2.24 ± 2.016
	Total		29	2.24 ± 1.994
Punta Pitt	Hembra		14	4.39 ± 5.510
	Macho		11	2.17 ± 1.852
	Total		25	3.41 ± 4.375
Total	Hembra		26	3.40 ± 4.338
	Macho		28	2.21 ± 1.919
	Total		54	2.78 ± 3.333
<hr/>				
Mon %				
Bahía Naufragio	Hembra		12	3.50 ± 2.541
	Macho		17	4.11 ± 4.513
	Total		29	3.86 ± 3.778
Punta Pitt	Hembra		14	1.21 ± 1.673
	Macho		11	0.82 ± 0.874
	Total		25	1.04 ± 1.369
Total	Hembra		26	2.27 ± 2.378
	Macho		28	2.82 ± 3.878
	Total		54	2.55 ± 3.225
<hr/>				

Tabla 5. Valores de hematocrito de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	Hematocrito (%)
Bahía Naufragio	Hembra	10	60.356 ± 6.155
	Macho	19	55.81 ± 8.230
	Total	29	57.377 ± 7.782
Punta Pitt	Hembra	15	67.091 ± 8.67
	Macho	11	71.41 ± 11.231
	Total	26	68.917 ± 9.863
Total	Hembra	25	64.397 ± 8.330
	Macho	30	61.529 ± 11.999
	Total	55	62.832 ± 10.499

Tabla 6. Valores hemoglobina de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	Hemoglobina (g/100ml)
Bahía Naufragio	Hembra	10	20.119 ± 2.052
	Macho	19	18.603 ± 2.743
	Total	29	19.126 ± 2.594
Punta Pitt	Hembra	15	22.364 ± 2.889
	Macho	11	23.803 ± 3.744
	Total	26	22.972 ± 3.288
Total	Hembra	25	21.466 ± 2.777
	Macho	30	20.509 ± 3.999
	Total	55	20.944 ± 3.499

Tabla 7. Valores de Volumen Corpuscular Medio (VCM) de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	VCM (fL)
Bahía Naufragio	Hembra	10	0.245 ± 0.077
	Macho	19	0.265 ± 0.075
	Total	29	0.258 ± 0.075
Punta Pitt	Hembra	15	0.186 ± 0.077
	Macho	11	0.211 ± 0.096
	Total	26	0.197 ± 0.085
Total	Hembra	25	0.209 ± 0.081
	Macho	30	0.245 ± 0.086
	Total	55	0.229 ± 0.085

Tabla 8. Valores de Concentración Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	CHCM (g/100ml)
Bahía Naufragio	Hembra	10	33.333 ± 5.888E-15
	Macho	19	33.333 ± 0.00
	Total	29	33.333 ± 0.00
Punta Pitt	Hembra	15	33.333 ± 0.00
	Macho	11	33.333 ± 0.00
	Total	26	33.333 ± 0.00
Total	Hembra	25	33.333 ± 0.00
	Macho	30	33.333 ± 0.00
	Total	55	33.333 ± 0.00

Tabla 9. Valores de Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	HCM (pg)
Bahía Naufragio	Hembra	10	0.082 ± 0.026
	Macho	19	0.088 ± 0.025
	Total	29	0.086 ± 0.025
Punta Pitt	Hembra	15	0.062 ± 0.026
	Macho	11	0.070 ± 0.032
	Total	26	0.066 ± 0.028
Total	Hembra	25	0.069 ± 0.027
	Macho	30	0.082 ± 0.029
	Total	55	0.076 ± 0.028

Tabla 10. Valores de Longitud Estándar (EL) de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

Colonia	Sexo	N	EL (cm)
Bahía Naufragio	Hembra	13	108.08 ± 6.589
	Macho	17	110.82 ± 8.974
	Total	30	109.63 ± 0.019
Punta Pitt	Hembra	16	113.22 ± 8.612
	Macho	11	116.27 ± 11.172
	Total	27	114.46 ± 9.651
Total	Hembra	29	110.91 ± 8.069
	Macho	28	112.96 ± 10.065
	Total	57	111.92 ± 9.081

12. Figuras

Figura 1. Medias marginales estimadas del recuento de glóbulos rojos de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

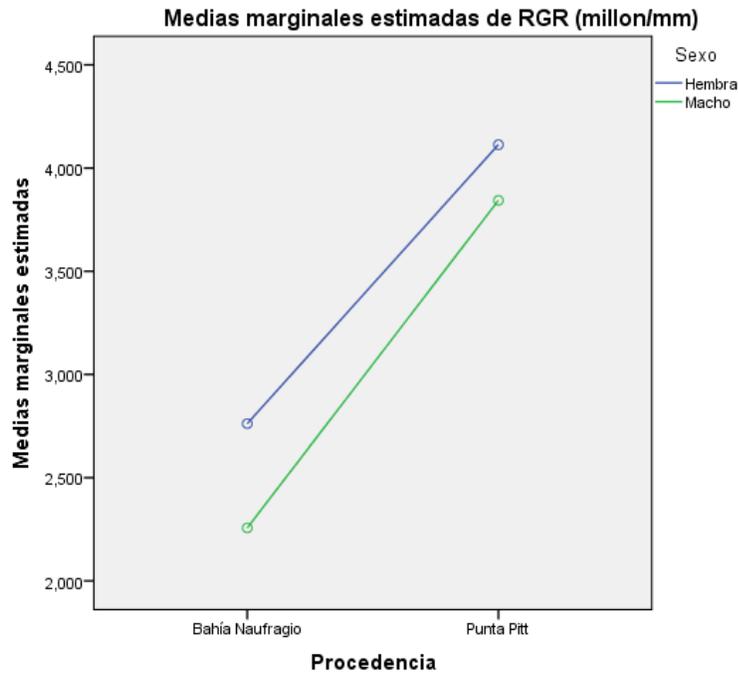


Figura 2. Medias marginales estimadas del recuento de glóbulos blancos de *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

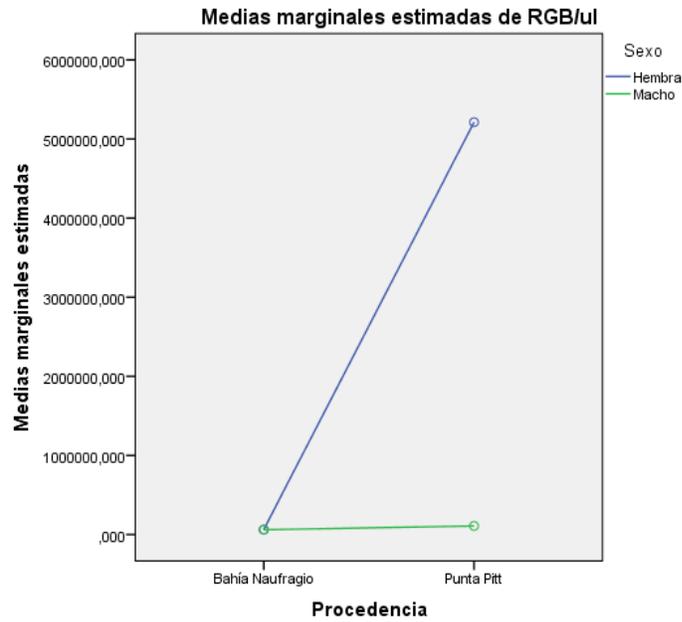


Figura 3. Gráfico de proporciones acumuladas del diferencial de glóbulos blancos en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

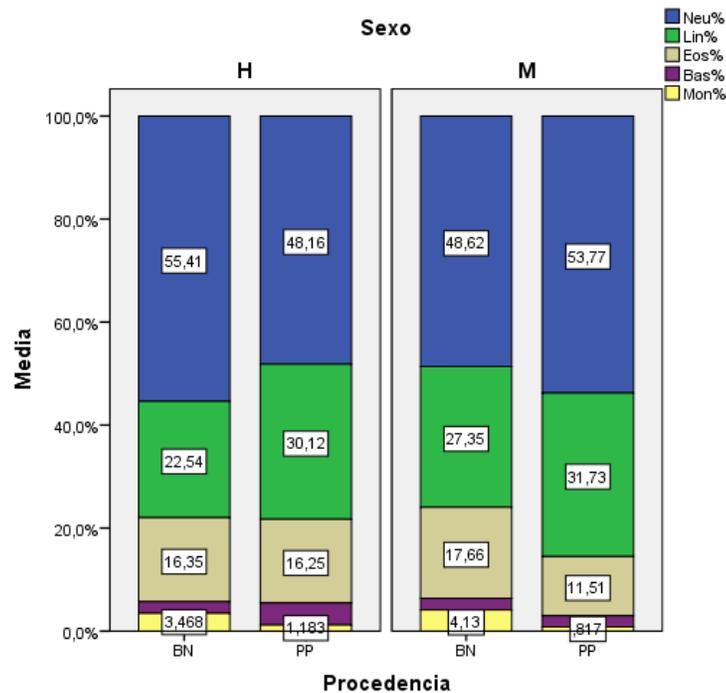


Figura 4. Comparación del recuento diferencial de glóbulos blancos en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

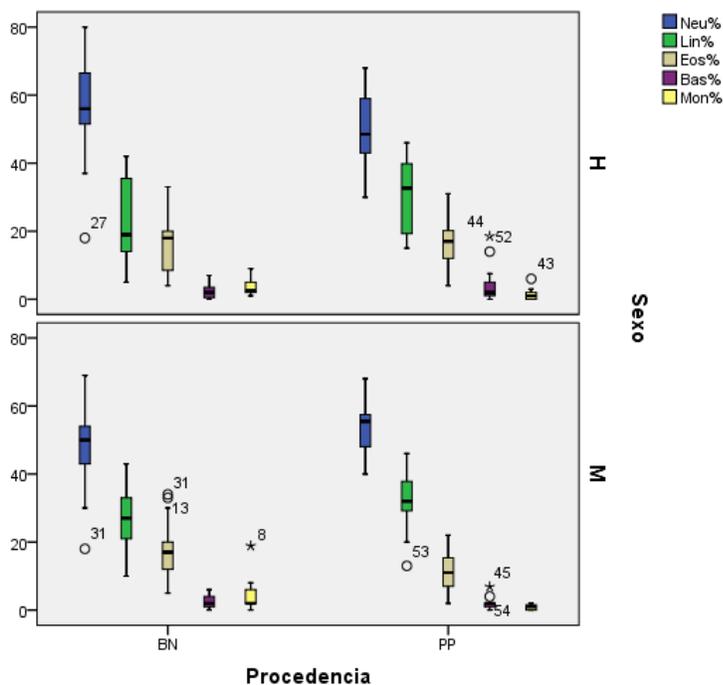


Figura 5. Comparación del porcentaje de hematocrito en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

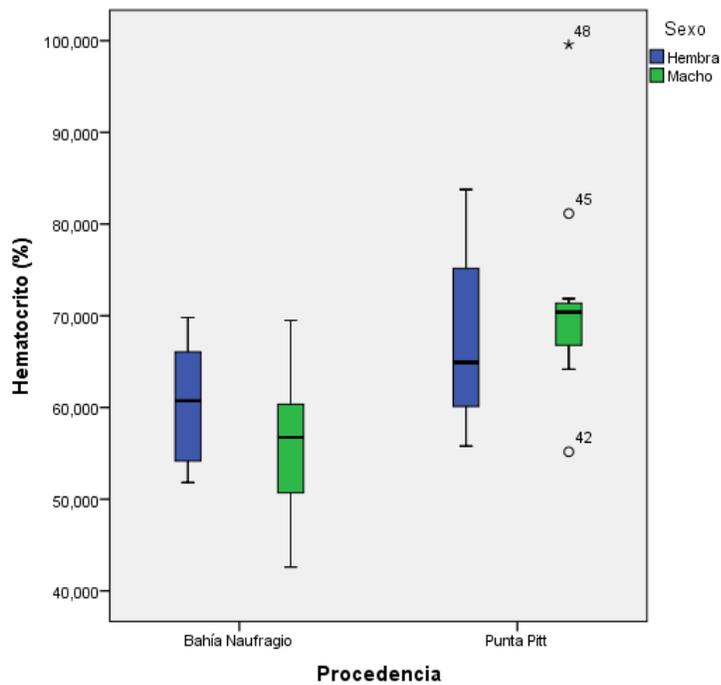


Figura 6. Comparación de los valores de hemoglobina en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

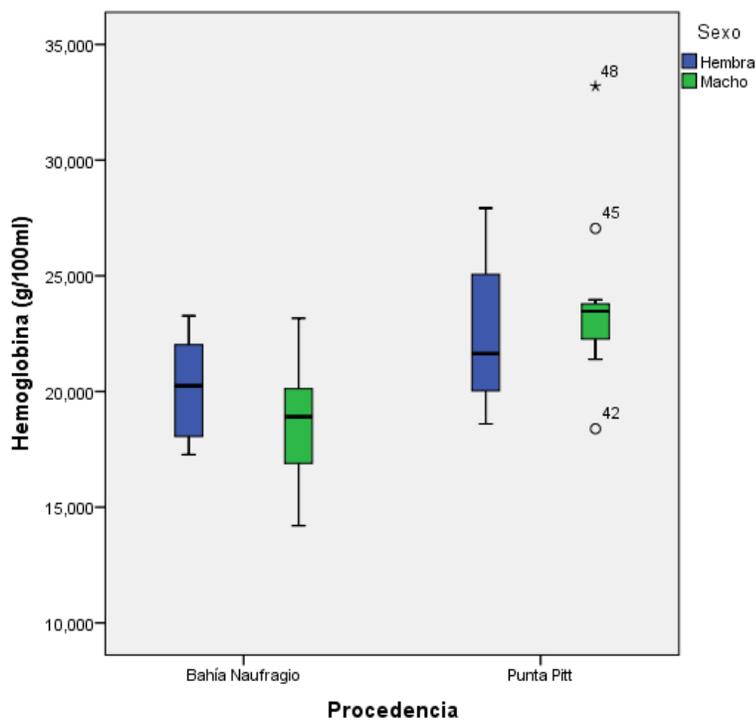


Figura 7. Comparación de Volumen Corpuscular Medio (VCM) en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

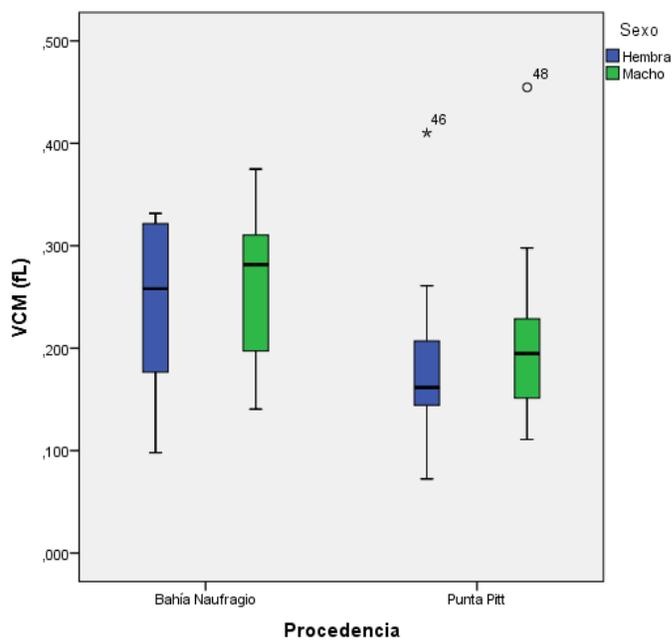


Figura 8. Medidas marginales estimadas de la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

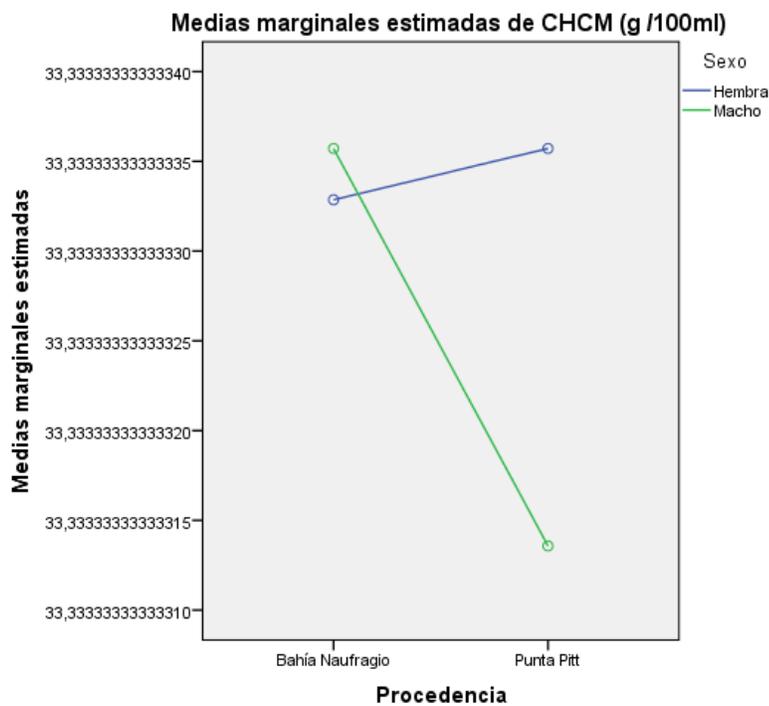


Figura 9. Comparación de la Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

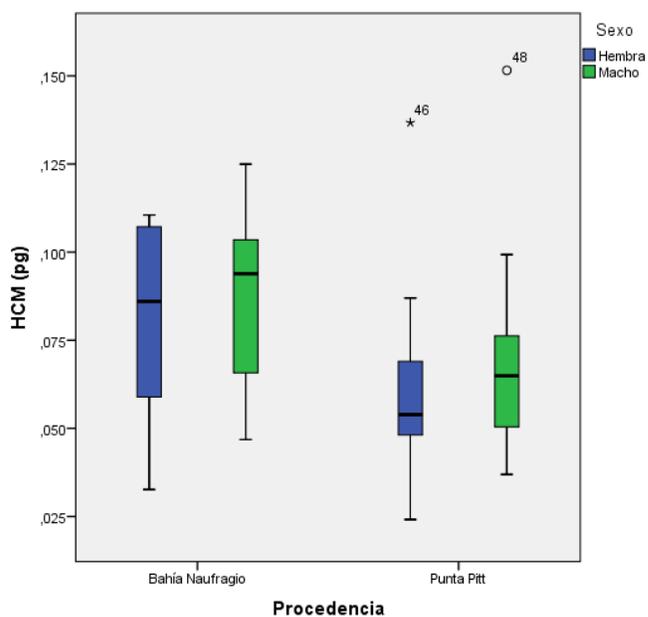


Figura 10. Medidas marginales estimadas de Longitud Estándar (EL) en *Zalophus wollebaeki* en las colonias de Bahía Naufragio y Punta Pitt

