

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**El estado actual de la condición de salud de las aves marinas
de Galápagos**

Proyecto de Investigación

Catalina Alexandra Ulloa Espinosa

Licenciatura en Biología

Trabajo de titulación presentado como requisito

para la obtención del título de

Licenciado en Biología

Quito, 15 de mayo de 2017

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO - USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**El estado actual de la condición de salud de las aves marinas
de Galápagos**

Catalina Alexandra Ulloa Espinosa

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

Carlos Valle. Ph.D.

Firma del profesor

Quito, 15 de mayo de 2017

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Catalina Alexandra Ulloa Espinosa

Código: 00128369

Cédula de Identidad: 1719430025

Lugar y fecha: Quito, 15 de mayo de 2017

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de titulación fue parte del Proyecto de investigación *“Ecología y situación actual de la comunidad de aves marinas de Galápagos: estudio de la variación espacio temporal de la dieta, relaciones tróficas, distribución y el estado de sus poblaciones”* autorizado a Carlos A. Valle por la Dirección del Parque Nacional Galápagos (N° PC-57-16) y el Ministerio del Ambiente a través de Maryuri Yépez de la Oficina Técnica del PNG en San Cristóbal.

Agradezco a las personas e instituciones que hicieron posible este trabajo de titulación. En especial a Carlos Valle por la paciencia, guía y conocimientos durante todo el proyecto. A Gregory Lewbart, Denise Hardesty, Diane Deresienski, Juan Pablo Muñoz, Cristina Regalado y Alice Skehel por su entusiasta participación durante el trabajo de campo. Al soporte logístico proveído por el Parque Nacional Galápagos a través de Juan García. A Tillie Laws por sus conocimientos técnicos. Al apoyo de Andrés Ortega a través de las instalaciones del Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco de Quito. A Carlos Mena y Stephen Walsh por colaborar con las facilidades del Galápagos Science Center UNC- Chapell Hill. Y a mi familia por el apoyo incondicional.

RESUMEN

Este estudio evalúa el estado de salud de cinco especies (125 individuos) de aves marinas de las Islas Galápagos incluyendo al piquero de patas rojas (*Sula sula*), fragata común (*Fregata minor*), pájaro tropical (*Phaethon aereus*), gaviota de cola bifurcada (*Creagrus furcatus*) y pardela de Galápagos (*Puffinus subalaris*) de la colonia de Punta Pitt, San Cristóbal, durante la temporada seca del 2016. Los rangos y tendencias para las variables de hematología y bioquímica analizadas están dentro lo esperado para especies saludables. Las únicas particularidades fueron las siguientes. La ligera acidosis ($\text{pH } 7.29 \pm 0.06$) y los niveles elevados de lactato ($4.19 \pm 1.3 \text{ mmol/L}$) encontrados en el piquero de patas rojas. Se investigó la relación de la condición corporal con las variables hematológicas y bioquímicas; en el caso del pájaro tropical se asoció con la cantidad de proteína total sanguínea, y en la fragata con lactato. Se reportan diferencias significativas en la condición corporal entre hembras y machos de fragata ($t=2.76$, $p=0.011$). Además, esta fue la única especie que presentó prevalencia (32%, $n= 25$) parasitaria para *Haemoproteus sp.* Los individuos infectados presentaron valores significativamente elevados de presión parcial de CO_2 frente a individuos no infectados ($t=2.09$, $p=0.048$). Los valores de hematología y bioquímica sanguínea se reportan por primera vez para el pájaro tropical y la pardela de Galápagos. Los valores reportados en este estudio proveen información de línea base que serán una herramienta para detectar cambios en la salud de las comunidades de aves marinas de Galápagos en el futuro.

Palabras clave: *Sula sula*, *Fregata minor*, *Phaethon aereus*, *Creagrus furcatus*, *Puffinus subalaris*, bioquímica sanguínea, hematología, gases sanguíneos, salud, *Haemoproteus*, aves marinas, Galápagos.

ABSTRACT

This study evaluates the health status of five species (125 individuals) of seabirds in the Galapagos Islands including red-footed booby (*Sula sula*), great frigatebird (*Fregata minor*), tropic bird (*Phaethon aereus*), swallow-tailed gull (*Creagrus furcatus*) and Galapagos shearwater (*Puffinus subalaris*) from the Punta Pitt colony, San Cristóbal, during the dry season of 2016. The ranges and trends for the hematology and biochemical variables analyzed are within what is expected for healthy species. The only peculiarities were the following. Mild acidosis (pH 7.29 ± 0.06) and elevated lactate levels (4.19 ± 1.3 mmol / L) were found in the red-footed booby. The relationship between body condition and hematological and biochemical variables was investigated, in the case of the tropic bird it was associated with the amount of total blood protein, and for the frigatebird with lactate values. Significant differences were reported in body condition between females and males of frigatebird ($t = 2.76$, $p = 0.011$). In addition, this was the only species that presented parasitic prevalence (32%, $n = 25$) for *Haemoproteus sp.* Infected individuals had significant elevated CO₂ partial pressure values against uninfected individuals ($t = 2.09$, $p = 0.048$). Hematology and blood biochemistry values are reported for the first time for the tropic bird and the Galapagos shearwater. The values reported in this study provide baseline information that will be a tool to detect changes in the health of Galapagos seabird communities in the future.

Key words: *Sula sula*, *Fregata minor*, *Phaethon aereus*, *Creagrus furcatus*, *Puffinus subalaris*, biochemistry, hematology, blood gases, health, *Haemoproteus*, seabirds, Galápagos.

TABLA DE CONTENIDO

Introducción	10
Métodos	12
Resultados.....	16
Discusión	30
Conclusiones	35
Referencias bibliográficas	36
Anexo A: Materiales	43
Anexo B: Identificación de Leucocitos.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Media, desviación estándar y rango para valores hematológicos de la comunidad de aves marinas de Punta Pitt. El tamaño de la muestra es 31 piqueros de patas rojas, 25 fragatas con 8 hembras y 17 machos, 21 pájaros tropicales, 28 gaviotas de cola bifurcada y 19 pardelas de Galápagos.	16
Tabla 2. Media, desviación estándar y rango para valores de gases y química sanguínea de la comunidad de aves marinas de Punta Pitt. El tamaño de la muestra es 31 piqueros de patas rojas, 25 fragatas con 8 hembras y 17 machos, 21 pájaros tropicales, 28 gaviotas de cola bifurcada y 19 pardelas de Galápagos.....	19

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Mapa de ubicación geográfica de Punta Pitt.	12
Fig. 2. Gráfico de barras de conteos diferenciales de leucocitos de las aves marinas de Punta Pitt.	17
Fig. 3. Diagrama de caja de leucocitos estimados de las aves marinas de Punta Pitt.	18
Fig. 4. Diagrama de caja del radio de heterófilos/linfocitos de las aves marinas de Punta Pitt.	18
Fig. 5. Diagrama de caja de hematocrito medido con iSTAT (PCVi) y hematocrito medido manualmente (PCVm) de las aves marinas de Punta Pitt.	18
Fig. 6. Diagrama de caja de hemoglobina (Hb) y proteína total (TP) de las aves marinas de Punta Pitt.	20
Fig. 7. Diagrama de caja de pH de aves las marinas de Punta Pitt.	21
Fig. 8. Diagrama de caja del exceso de base del fluido extracelular completo (BE ecf) en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.	21
Fig. 9. Diagrama de caja de bicarbonato (HCO_3) y CO_2 total (TCO_2) en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.	22
Fig. 10. Diagrama de caja de la saturación de oxígeno en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.	22
Fig. 11. Diagrama de caja de la presión parcial de CO_2 y O_2 en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.	23
Fig. 12. Diagrama de caja de Sodio (Na) de las aves marinas de Punta Pitt.	23
Fig. 13. Diagrama de caja de potasio (K), calcio iónico (iCa) y lactato (Lact) de las aves marinas de Punta Pitt.	24
Fig. 14. Diagrama de caja de glucosa de las aves marinas de Punta Pitt.	24
Fig. 15. Diagrama de caja para la condición corporal entre hembras (n=8) y machos (n=17) de fragatas.	26
Fig. 16. Gametocito de <i>Haemoproteus</i> sp. en eritrocito de fragata.	26
Fig. 17. Heterófilo citotóxico de fragata.	27
Fig. 18. Heterófilo vacuolado de fragata.	27
Fig. 19. Diagrama de caja para la presión parcial de CO_2 (mmol/L) para individuos infectados (n=8) y no infectados (n=17) con <i>Haemoproteus</i> sp.	27
Fig. 20. Regresión lineal entre condición corporal y proteína total (TP) (n=9) para pájaros tropicales, $R^2=0.002$	28
Fig. 21. Regresión lineal entre condición corporal y lactato (n=25) para fragatas, $R^2 =0.148$	29

INTRODUCCIÓN

El estado de salud de las aves marinas es cambiante, a nivel mundial, con un notable deterioro en los últimos años (Croxall et al., 2012; Paleczny et al., 2015). Se puede atribuir este cambio a la condición en la que se encuentran los ecosistemas marinos (Croxall et al., 2012; Sydeman et al., 2012; Mallory et al., 2010) producto de los efectos acumulativos de factores antropogénicos y del cambio climático (Halpern et al., 2008; Hoegh-Guldberg & Bruno, 2010). En las aves marinas se han reportado desde efectos drásticos como muerte por inanición generada por la obstrucción del aparato digestivo con plásticos (Pierce et al. 2004), hasta otros sutiles y sub letales a nivel fisiológico (Mallory et al., 2010). Existe evidencia del aumento de niveles basales de corticosterona en pingüinos asociados a visitas turísticas (Ellenberg et al., 2007). Hay efectos inmunológicos en los perfiles de leucocitos y radios de heterófilos: linfocitos asociados con estrés crónico (Davis et al., 2008; Vleck et al., 2000) y contaminantes (Wayland et al., 2002). Además, la emergencia de nuevos parásitos y la expansión del rango de los ya conocidos se predicen efectos del cambio climático (Downs and Stewart, 2015). Ante estas circunstancias es necesario aportar al conocimiento de línea base fisiológico y bioquímico sanguíneo para discernir entre los parámetros de individuos saludables y enfermos (Mallory et al., 2010). La comprensión de la condición corporal y de la función inmunológica en las dinámicas poblacionales de los animales silvestres también permite conocer el efecto de decisiones de manejo (Downs & Stewart, 2015).

En el caso de Islas Galápagos, las comunidades de animales silvestres se encuentran afectadas por el crecimiento poblacional humano, turismo creciente, inadecuada planificación regional (Walsh et al., 2010), presencia de contaminantes (Alava et al., 2014), especies invasivas, enfermedades como la viruela aviar (Wikelski et al., 2004) y parásitos

como *Philornis downsi* en los pinzones de Darwin (Fessl et al., 2006). Existen reportes de adenovirus en los albatros de Galápagos de la isla Española (Padilla et al., 2003); microfilarias en el cormorán no volador de Galápagos y pingüinos de las islas Isabela y Fernandina (Siers et al., 2010; Merkel et al., 2007); *Haemoproteus* en gaviotas de cola bifurcada (Levin et al., 2012), piqueros de patas azules, (Lee-Cruz et al., 2016), fragatas comunes y piqueros de patas rojas (Padilla et al., 2006). La condición de salud de las aves marinas de Galápagos ha sido estudiada solamente en la colonia de la Isla Genovesa (Padilla et al. 2006), con resultados similares a los de las comunidades de aves marinas de Hawaii (Work, 1996). Adicionalmente reporta la prevalencia de *Haemoproteus sp.* para fragata, piquero de patas rojas y gaviota de cola bifurcada; y efectos de estrés fisiológico en fragatas infectadas.

Este estudio buscó contribuir al conocimiento de la condición de salud de las aves marinas de Galápagos mediante la medición y análisis de múltiples variables de bioquímica sanguínea. Estas variables permitieron establecer el estado general de salud de alrededor del 25% de las especies de la comunidad de aves marinas de Galápagos. La información obtenida permitirá entender cómo se encuentra esta comunidad frente a otras con una historia natural diferente. Además, permitirá entender cómo cambian las comunidades de aves marinas de Galápagos ante eventos futuros.

A continuación, se detalla cómo se ejecutó la evaluación del estado de salud de la comunidad de aves marinas de Punta Pitt, San Cristóbal.

MÉTODOS

Este estudio se realizó en el Islote Pitt (042'14.3"S, 89 014'54.3"W)) y Punta Pitt (0°42'36.88 "S, 89° 15'12.02" O) al noroeste de la isla San Cristóbal (Fig.1) en el Archipiélago de Galápagos. Se accedió al sitio de muestreo vía marítima desde Puerto Baquerizo Moreno, allí se estableció un campamento temporal. Se realizó la colección de muestras en la colonia de anidación de piqueros de patas rojas (*Sula sula*) y fragatas (*Fregata minor*) cercana a Playa Blanca en el oeste de Punta Pitt; se muestreó pájaros tropicales (*Phaethon aereus*), gaviotas de cola bifurcada (*Creagrus furcatus*) y pardelas de Galápagos (*Puffinus subalaris*) en el Islote Pitt. La colección de muestras se realizó en la temporada seca entre el 26 de junio y el 2 de julio del 2016.

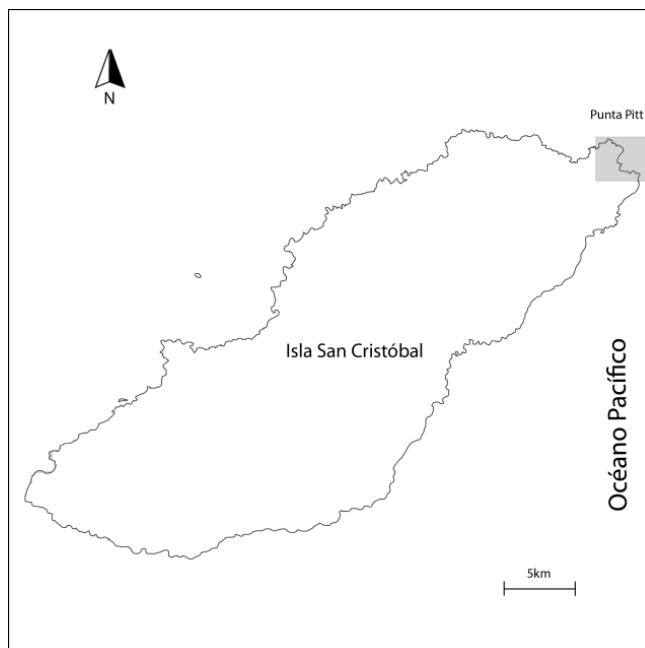


Fig. 1. Mapa de ubicación geográfica de Punta Pitt.

Todas las aves fueron capturadas manualmente y durante todo el proceso se mantuvieron los ojos cubiertos y el pico ligeramente cerrado. Previo a la toma de sangre se realizó una evaluación física de los individuos y se registró temperatura corporal (cloacal), ritmo cardiaco (lpm) y frecuencia respiratoria (rpm). Todas las muestras de sangre se obtuvieron

de una punción en la vena braquial con jeringas heparinizadas de 1 ml y 3 ml (20G x 38mm) dependiendo del tamaño del ave. Se obtuvo una muestra sanguínea de ~1 ml y se realizó consecutivamente dos frotis sanguíneos, análisis de lactato usando tiras de ensayo en un analizador *Lactate-Plus* y se corrió un cartucho CG8+ de iSTAT para el análisis de gases y valores bioquímicos que incluyen Na^{++} , K^{+} , iCa , Glucosa, pH, presión parcial de CO_2 , presión parcial de O_2 , TCO_2^{+} , HCO_3^{-} , $\text{Be}_{\text{ecf}}^{+}$, sO_2^{+} , hematocrito y hemoglobina. La sangre restante fue almacenada en tubos Eppendorff que se mantuvieron en refrigeración hasta regresar a los laboratorios.

Las medidas del registro morfométrico fueron realizadas por la misma persona para evitar obtener sesgos metodológicos. Las medidas registradas con el uso de un calibrador digital fueron longitud de tarso; longitud, ancho y profundidad de pico; y en el caso de las gaviotas de cola bifurcada se registró tamaño extendido de pico. Con un flexómetro se determinó la longitud de ala y utilizando pesolas de diferente capacidad se determinó el peso. Antes de ser liberados se marcó el pico para evitar la recaptura y de cada individuo se obtuvo cinco plumas pectorales para ser analizadas por la técnica de isótopos estables. Además, se colectó aceite de la glándula uropigial en viales estériles para analizar la presencia de contaminantes plásticos. Ambos análisis ajenos a la extensión de este proyecto de titulación. Una vez finalizada la obtención de muestras se regresó los individuos a los sitios encontrados.

Los análisis de laboratorio se realizaron en las instalaciones del Galápagos Science Center-UNC Chapel Hill (GSC) y en el Hospital Docente de Especialidades Veterinarias de la Universidad San Francisco de Quito. Los análisis realizados fueron conteos estimados de células blancas con el procedimiento de Newman et al. (1997) modificado con un objetivo

de 100x; conteos diferenciales de células blancas (Work, 1996); evaluación de parásitos del género *Haemoproteus* como indica Padilla et al. (2006); hematocrito y proteína total (Anexo A). Finalmente, las muestras fueron almacenadas -20 °C en el GSC.

Antes de realizar los análisis estadísticos todos los resultados fueron testeados para los requerimientos de los análisis paramétricos. Se utilizó el test de Shapiro-Wilks para evaluar normalidad y el test de Levene para homocedasticidad. Los conteos estimados de leucocitos al ser variables porcentuales fueron transformados con arcoseno raíz cuadrada para alcanzar los requerimientos de los análisis paramétricos. Se calculó el coeficiente de variación en todos los resultados.

La Prueba t de Student fue usada en fragatas para determinar diferencias dadas por el sexo y diferencias entre individuos infectados y no infectados con *Haemoproteus* para los valores hematológicos de Leucocitos estimados, Heterófilos, Eosinófilos, Linfocitos, Monocitos, Basófilos, Radio Heterófilo/Linfocito, Proteína Total Manual, Hematocrito; los valores bioquímicos de Hemoglobina, pH, TCO₂, HCO₃⁻, presión parcial de CO₂, presión parcial de O₂, Be_{ecf}⁺, sO₂⁺, Na⁺⁺, K⁺, iCa, Glucosa y Lactato; y la condición corporal. Las variables que no cumplieron las condiciones de pruebas paramétricas fueron analizadas con el Prueba U de Mann-Whitney.

En todas las especies se calculó la condición corporal como el residual de la regresión lineal entre la masa y el tamaño del ala, de esta forma se controló el efecto de la variación del tamaño de los individuos (Labocha & Hayes, 2012; Lormeé et al., 2003). Esta última es la medida morfométrica que mejor refleja el tamaño como una medida lineal en aves marinas en general (C. Valle comunicación personal). Se evaluó la relación de la condición corporal con los valores de hematología y química sanguínea con regresiones lineales. Se utilizó el

coeficiente de correlación de Pearson para las especies cuya condición corporal como variable de predicción cumplió las condiciones para análisis paramétricos, en caso contrario se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman.

Se realizó el análisis de covarianza ANCOVA en fragatas para determinar diferencias entre sexo tomando en cuenta el efecto de la condición corporal como covariante.

RESULTADOS

Se obtuvieron 125 muestras de sangre de individuos adultos de cinco especies de aves marinas de Punta Pitt; codificados como piquero de patas rojas (RFBO), fragata común (GFB), pájaro tropical (RBTB), gaviota de cola bifurcada (STG) y pardela de Galápagos (GSW).

Los valores de hematología y química sanguínea se reportaron como media, desviación estándar, valores mínimos y máximos (Tabla 1 y 2). Los conteos diferenciales de leucocitos se visualizan en un gráfico de barras (Fig. 2). El resto de variables hematológicas se presentan en diagramas de caja (Fig. 3, 4 y 5), al igual que las variables bioquímicas (Fig. 6-14).

Tabla 1. Media, desviación estándar y rango para valores hematológicos de la comunidad de aves marinas de Punta Pitt. El tamaño de la muestra es 31 piqueros de patas rojas, 25 fragatas con 8 hembras y 17 machos, 21 pájaros tropicales, 28 gaviotas de cola bifurcada y 19 pardelas de Galápagos.

Especie	Piquero de Patas Roja (RFBO)	Fragata común (GFB)		Pájaro Tropical (RBTB)	Gaviota de Cola Bifurcada (STG)	Pardela de Galápagos (GSW)	
		Hembras	Machos				
Leucocitos $\bar{x} \pm DS$ (min-máx)							
Heterófilos %	41.31 ± 12.22 (12-68)	28.46 ± 11.49 (12-56.5)	26.25 ± 7.08 (13.5-32)	29.50 ± 13.13 (12-56.5)	34.74 ± 10.01 (19-56)	52.16 ± 10.83 (30.5-76)	50.61 ± 14.78 (11-78.5)
Linfocitos %	50.10 ± 13.03 (23-78)	38.04 ± 15.17 (16-74)	38.0 ± 14.95 (16-66.5)	38.06 ± 15.72 (19.5-74)	34.33 ± 12.44 (13-64)	40.39 ± 12.06 (19-66)	44 ± 15.45 (15.5-86.5)
Eosinófilos %	5.30 ± 3.58 (1-17)	32.12 ± 11.62 (10.5-56)	34.31 ± 11.21 (19-52.5)	31.09 ± 12 (10.5-56)	29.12 ± 16.56 (2-62.5)	5.98 ± 5.41 (1-30.5)	0.72 ± 1.43 (0-6)
Monocitos %	3.88 ±	1.34 ±	1.37 ±	1.32 ±	1.81 ±	1.39 ± 0.99	1.86 ± 0.94

	2.21 (1-10)	0.85 (0-3.5)	0.92 (0.5-3)	0.85 (0-3.5)	1.32 (0-4.5)	(0-4)	(0.5-3.5)
Basófilos %	0.0968 ± 0.3 (0-1)	0.06 ± 0.17 (0-0.5)	0.125 ± 0.232 (0-0.5)	0.029 ± 0.121 (0-0.5)	0 ± 0 (0)	0.071 ± 0.22 (0-1)	0.028 ± 0.12 (0-0.5)
Leucocitos Estimados	4541.94 ± 1122.86 (2600-7600)	3660 ± 637.7 (2700-5700)	3812.5 ± 891.92 (2700-5700)	3588.24 ± 494.82 (2800-4500)	3328.57 ± 480.77 (2600-4400)	3928.57 ± 1097.76 (2700-7600)	3283.3 ± 719.68 (1300-4400)
Het/Linf	0.939 ± 0.508 (0.17-2.4)	0.944 ± 0.609 (0.16-2.20)	0.85 ± 0.52 (0.2-1.91)	0.99 ± 0.66 (0.16-2.2)	1.13 ± 0.46 (0.425-2)	1.53 ± 0.9 (0.46-4)	1.39 ± 0.86 (0.13-4.03)
Hematocrito Manual (%)	18.75 ± 6.61 (12.5-27.5)	58.03 ± 9.56 (42.5-75)	56.29 ± 8.83 (45-72.5)	59 ± 10.66 (42.5-75)	48.3 ± 9.67 (30-65)	47.5 ± 11.31 (35-77.5)	49.86 ± 11.44 (35-70)
Hematocrito (iSTAT) %	30.71 ± 4.44 (19-37)	37.72 ± 3.66 (31-46)	39.13 ± 4.67 (32-46)	37.06 ± 3.01 (31-42)	38.81 ± 3.52 (30-44)	32.54 ± 3.59 (25-39)	33.42 ± 4.49 (27-43)
Proteína Total	37.75 ± 9.8 (26-50)	43.07 ± 7.99 (33-63)	41.14 ± 5.93 (36-53)	44.75 ± 9.52 (33-63)	47.56 ± 11.71 (32-67)	43.71 ± 4.37 (36-50)	43.57 ± 6.7 (34-51)
Prevalencia Haemoproteus	-	0.28 ± 0.435 (0-1)	0.06 ± 0.18 (0-1)	0.38 ± 0.48 (0-1)	-	-	-

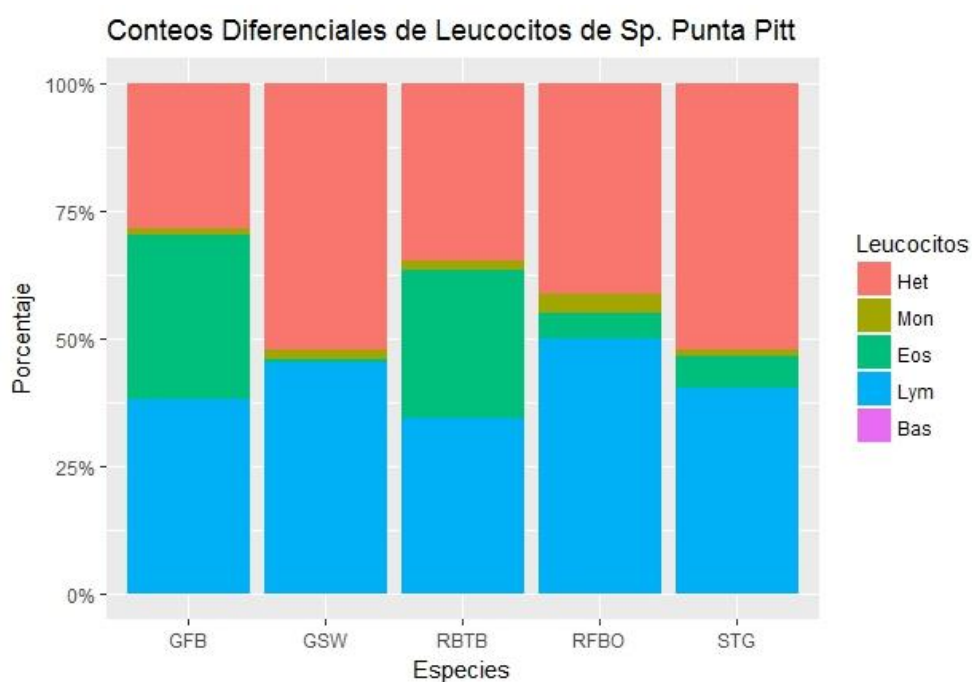


Fig. 2. Gráfico de barras de conteos diferenciales de leucocitos de las aves marinas de Punta Pitt.

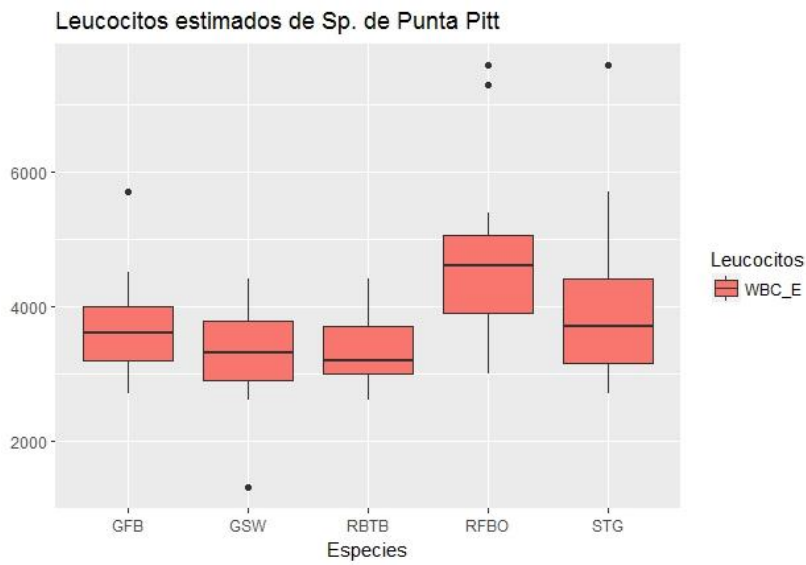


Fig. 3. Diagrama de caja de leucocitos estimados de las aves marinas de Punta Pitt.

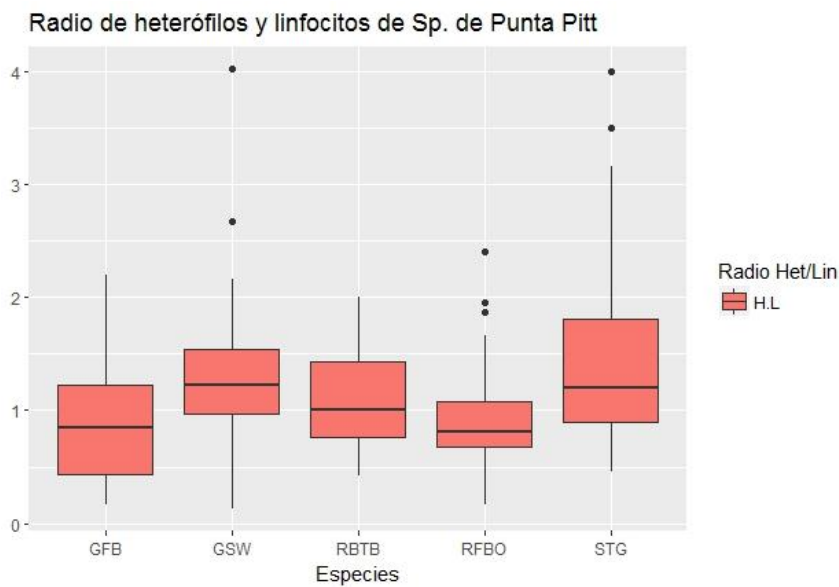


Fig. 4. Diagrama de caja del radio de heterófilos/linfocitos de las aves marinas de Punta Pitt.

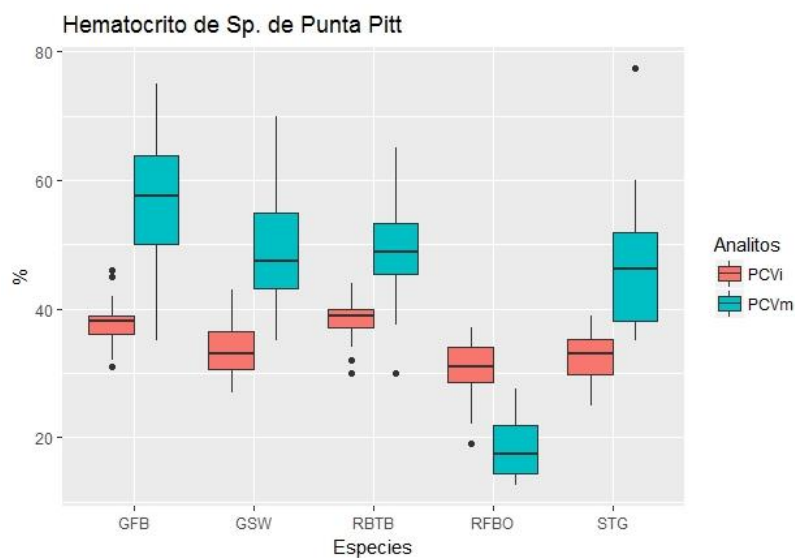


Fig. 5. Diagrama de caja de hematocrito medido con iSTAT (PCVi) y hematocrito medido manualmente (PCVm) de las aves marinas de Punta Pitt.

Tabla 2. Media, desviación estándar y rango para valores de gases y química sanguínea de la comunidad de aves marinas de Punta Pitt. El tamaño de la muestra es 31 piqueros de patas rojas, 25 fragatas con 8 hembras y 17 machos, 21 pájaros tropicales, 28 gaviotas de cola bifurcada y 19 pardelas de Galápagos.

Especie	Piquero de Patas Roja (RFBO)	Fragata común (GFB)		Pájaro Tropical (RBTB)	Gaviota de Cola Bifurcada (STG)	Pardela de Galápagos (GSW)	
		Hembras	Machos				
Analitos $\bar{x} \pm DS$ (min-máx)							
Hemoglobina (g/dL)	10.45 ± 1.5 (6.5-12.6)	12.82 ± 1.25 (10.5-15.6)	13.30 ± 1.57 (10.9-15.6)	12.6 ± 1.03 (10.5-14.3)	13.21 ± 1.19 (10.2-15)	11.06 ± 1.23 (8.5-13.3)	11.36 ± 1.53 (9.2-14.6)
pH (Temperatura Corregida)	7.29 ± 0.06 (7.15-7.37)	7.36 ± 0.07 (7.22-7.51)	7.34 ± 0.08 (7.26-7.47)	7.36 ± 0.076 (7.22-7.51)	7.37 ± 0.09 (7.24-7.67)	7.38 ± 0.6 (7.21-7.48)	7.36 ± 0.07 (7.24-7.50)
Be_{ecf}⁺ (mmol/L)	-10.03 ± 3.17 (-17-(-4))	-3.84 ± 4.78 (-14-8)	-4.63 ± 2.72 (-8-1)	-3.47 ± 5.52 (-14-8)	-7.29 ± 3.97 (-12-2)	-7.44 ± 2.99 (-15-(-1))	-12 ± 3.83 (-18-(-4))
TCO₂ (mmol/L)	16.96 ± 3.07 (10-23)	22.16 ± 4.04 (12-32)	22 ± 1.85 (20-25)	22.24 ± 4.79 (12-32)	18.1 ± 3.48 (12-26)	17.59 ± 2.21 (13-23)	13.33 ± 2.97 (8-19)
sO₂⁺ (%)	81.6 ± 9.37 (60-94)	74.96 ± 12.46 (49-97)	73.13 ± 15.69 (49-97)	75.82 ± 11.07 (60-97)	88.62 ± 6.88 (68-97)	90.15 ± 4.35 (76-95)	91.11 ± 4.31 (77-95)
HCO₃⁺ (mmol/L)	16.05 ± 2.83 (9.9-21.5)	21.12 ± 3.94 (11.8-31.2)	20.72 ± 1.79 (18.4-23.6)	21.3 ± 4.66 (11.8-31.2)	17.35 ± 3.41 (11.9-25.4)	16.79 ± 2.15 (12.1-21.7)	12.73 ± 2.89 (7.7-18.7)
Presión parcial de CO₂ (mmHg)	36.25 ± 11.9 (21-87)	38.14 ± 6.77 (23.2-49.7)	39.71 ± 6.73 (28.4-49)	37.39 ± 6.86 (23.2-49.7)	30.95 ± 6.58 (14-40.7)	29.23 ± 4.6 (19.4-41.3)	22.85 ± 4.58 (15.1-33.2)

Presión parcial de O₂ (mmHg)	62.17 ± 10.93 (49-83)	51.60 ± 19.04 (32-105)	51 ± 18.86 (32-88)	51.88 ± 19.69 (37-105)	69.52 ± 15.93 (45-106)	72.14 ± 8.86 (59-92)	73.89 ± 9.52 (57-89)
Na⁺ (mmol/L)	143.65 ± 8.5 (125-179)	141.72 ± 3.22 (138-148)	142.75 ± 3.49 (138-148)	141.24 ± 3.07 (138-148)	141.38 ± 3.58 (131-146)	145.29 ± 2.79 (138-150)	147.37 ± 4.29 (139-155)
K⁺ (mmol/L)	4.04 ± 0.33 (3.3-4.8)	3.86 ± 0.62 (3-5.7)	3.98 ± 0.743 (3.3-5.7)	3.79 ± 0.57 (3-5.3)	3.57 ± 0.52 (2.7-5.4)	3.16 ± 0.33 (2.5-3.9)	4.67 ± 1.16 (3.1-7.7)
iCa (mmol/L)	0.99 ± 0.22 (0.45-1.38)	1.09 ± 0.136 (0.61-1.28)	1.13 ± 0.09 (0.92-1.22)	1.08 ± 0.15 (0.61-1.28)	1.08 ± 0.2 (0.48-1.3)	1.04 ± 0.14 (0.69-1.27)	1.31 ± 1.31 (0.7-6.67)
Glucosa (mg/dL)	226.39 ± 42.31 (121-307)	273.52 ± 29.37 (202-311)	281.75 ± 26.1 (239-311)	269.65 ± 30.76 (202-311)	318.14 ± 42.88 (231-429)	313.68 ± 38.13 (219-399)	285.58 ± 42.66 (191-381)
Lactato (mmol/L)	4.19 ± 1.3 (2.3-7.5)	3.28 ± 0.95 (1.8-5.6)	2.96 ± 0.94 (1.8-4.2)	3.43 ± 0.95 (2.3-5.6)	3.47 ± 1.54 (1.2-6.6)	2.3 ± 7.5 (1.7-4)	3.71 ± 1.36 (1.8-6.3)

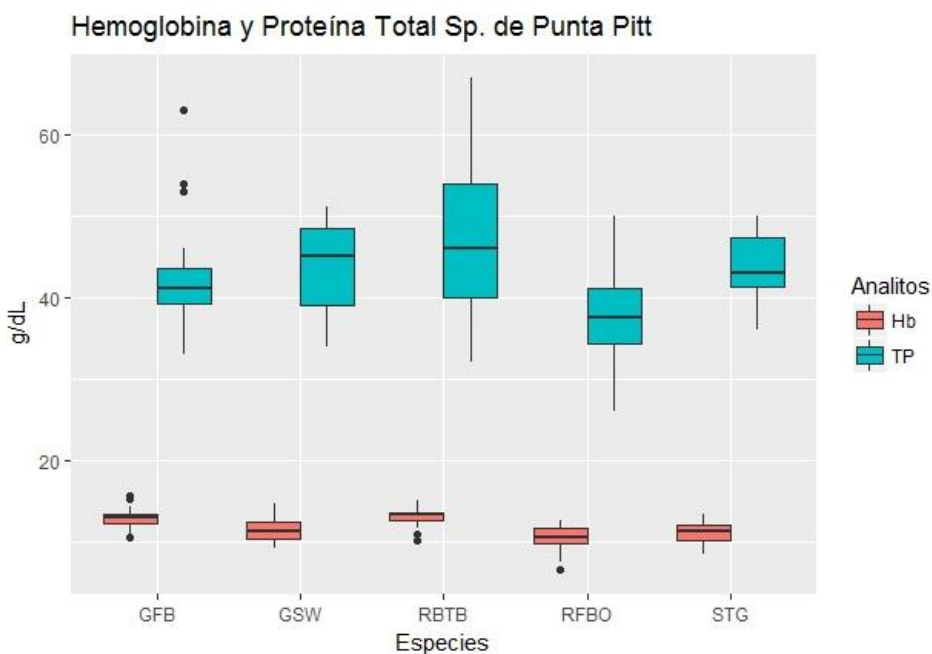


Fig. 6. Diagrama de caja de hemoglobina (Hb) y proteína total (TP) de las aves marinas de Punta Pitt.

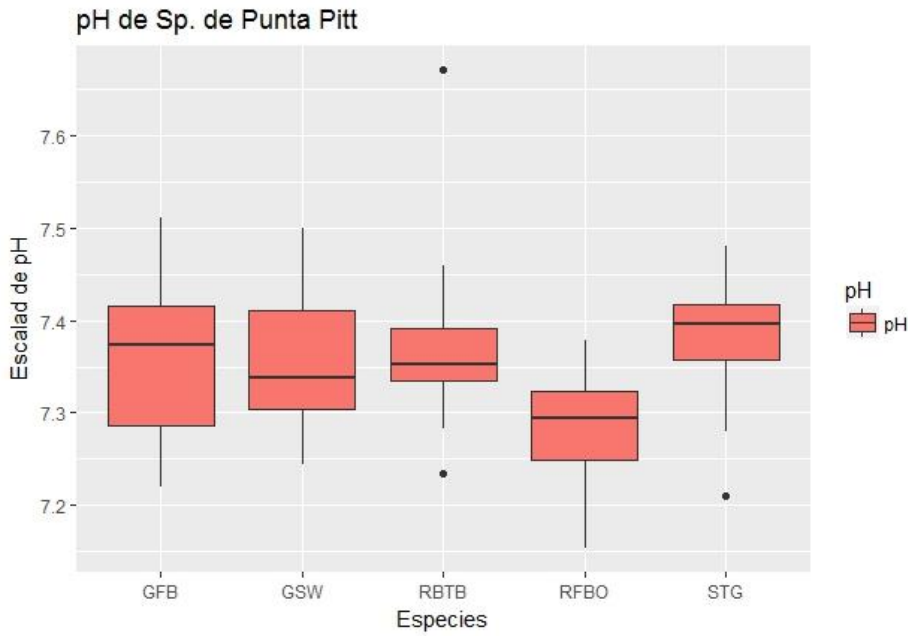


Fig. 7. Diagrama de caja de pH de aves las marinas de Punta Pitt.

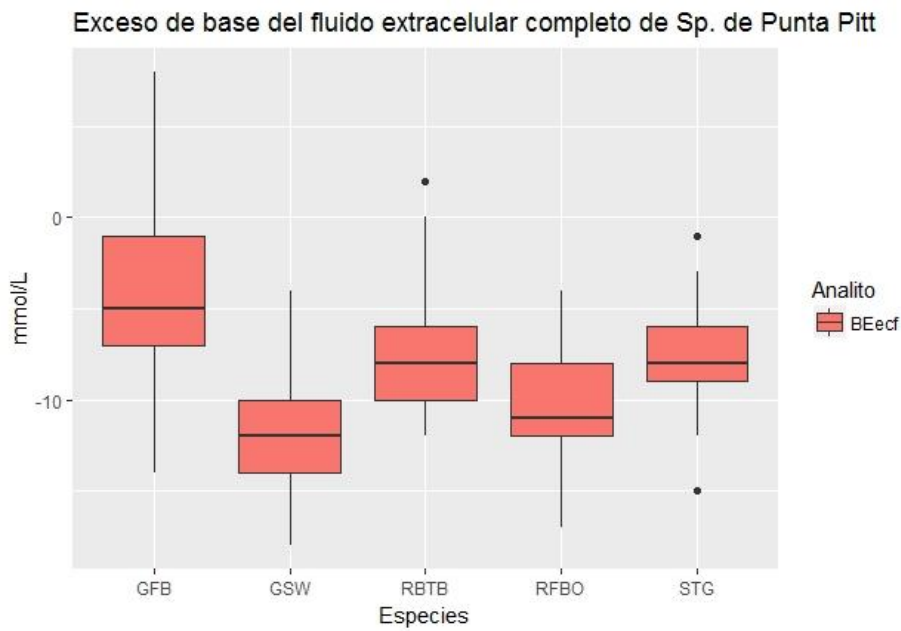


Fig. 8. Diagrama de caja del exceso de base del fluido extracelular completo (BE ecf) en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.

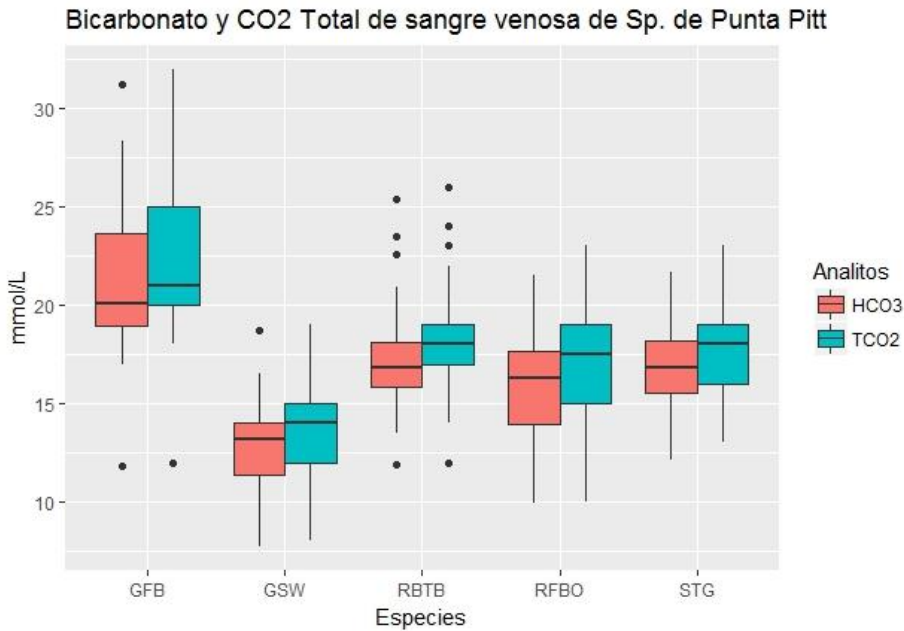


Fig. 9. Diagrama de caja de bicarbonato (HCO₃) y CO₂ total (TCO₂) en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.

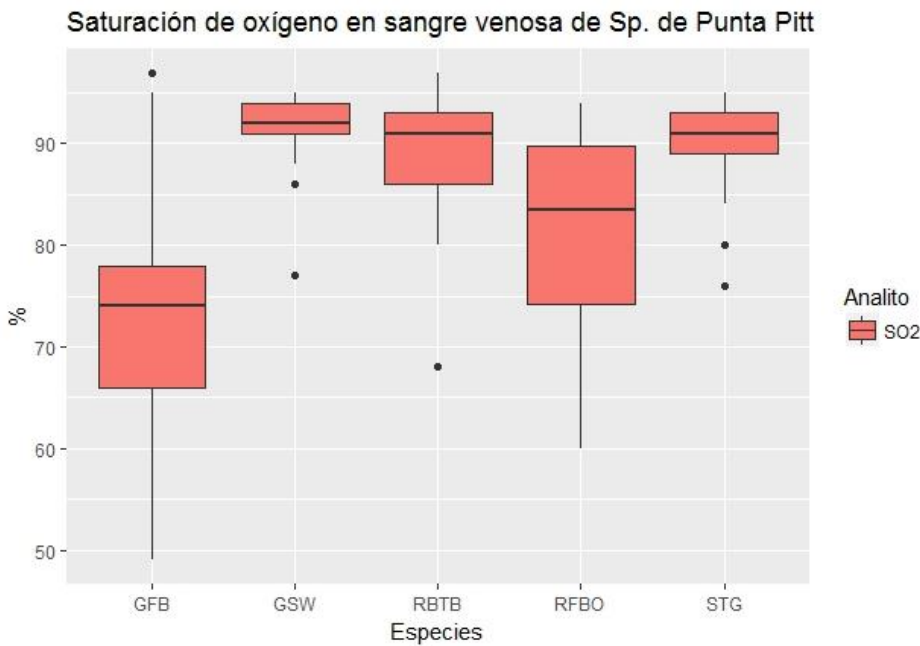


Fig. 10. Diagrama de caja de la saturación de oxígeno en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.

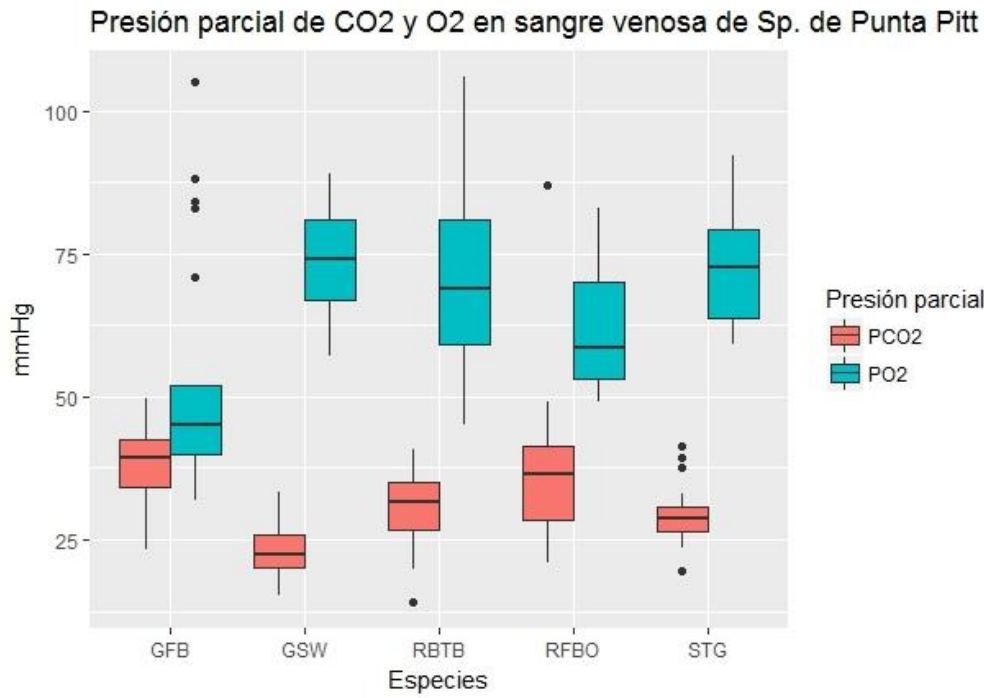


Fig. 11. Diagrama de caja de la presión parcial de CO₂ y O₂ en sangre venosa de las aves marinas de Punta Pitt.

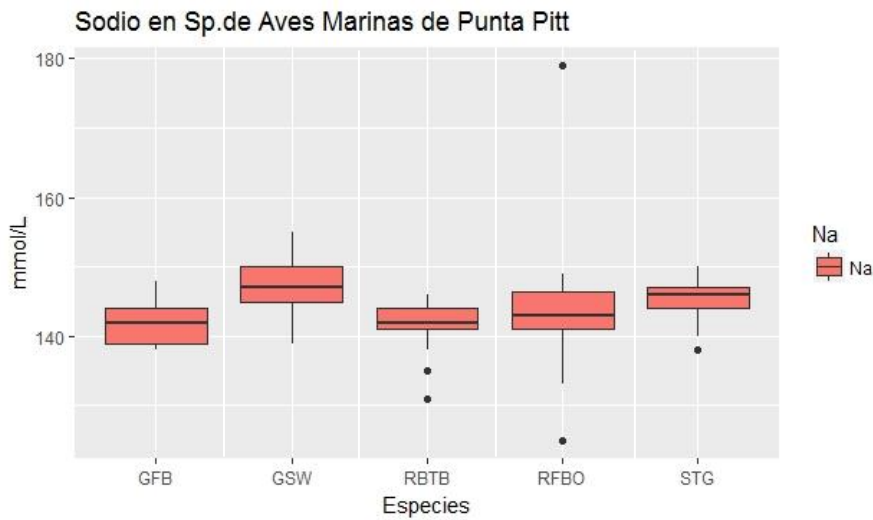


Fig. 12. Diagrama de caja de Sodio (Na) de las aves marinas de Punta Pitt.

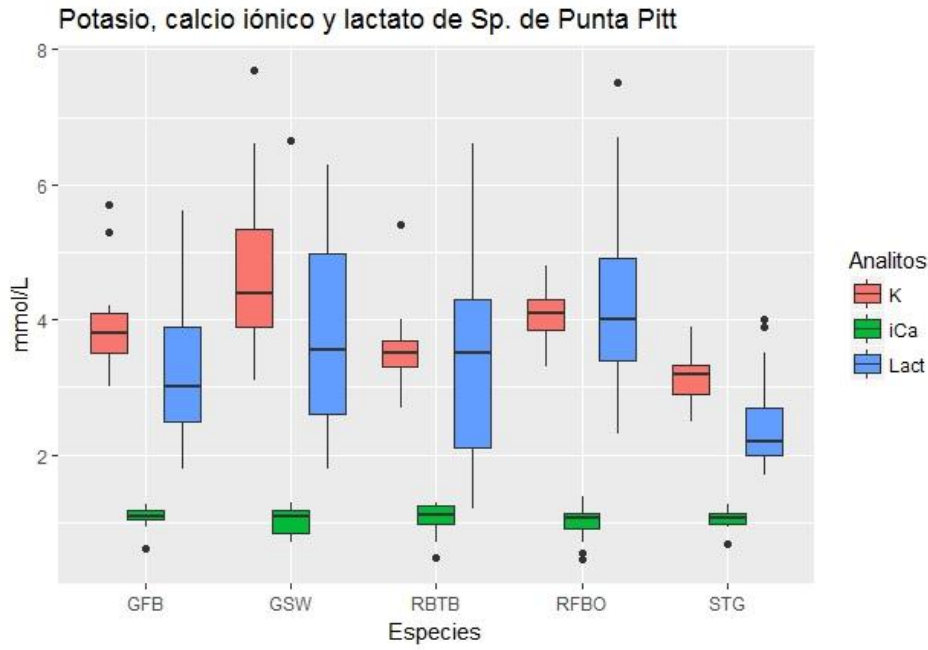


Fig. 13. Diagrama de caja de potasio (K), calcio iónico (iCa) y lactato (Lact) de las aves marinas de Punta Pitt.

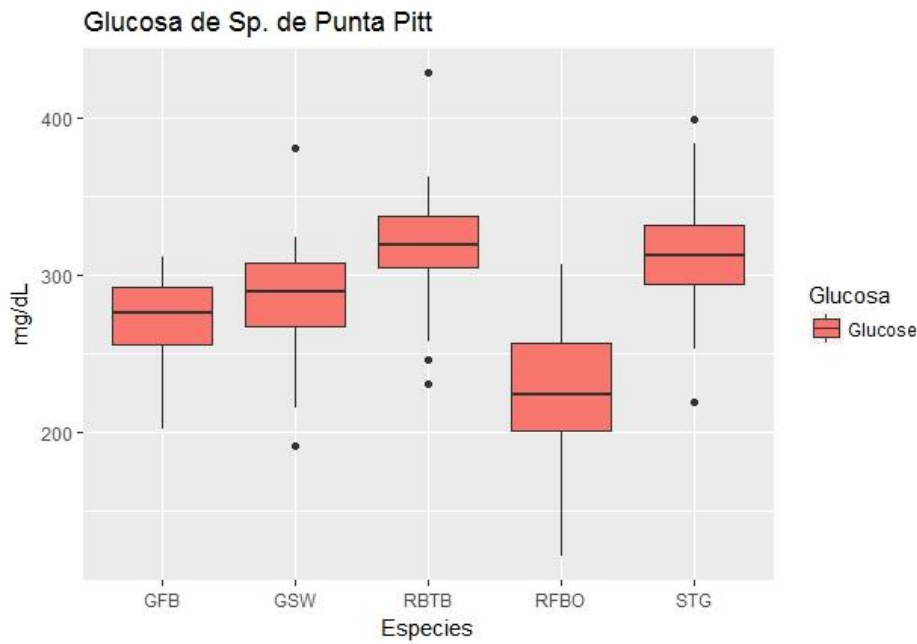


Fig. 14. Diagrama de caja de glucosa de las aves marinas de Punta Pitt.

El coeficiente de variación calculó la variabilidad respecto de la media obtenida para cada una de las variables hematológicas y bioquímicas presentadas. La variabilidad incluye la variación natural, que ocurre en los sistemas biológicos, y el error de medición ya sea por medición manual o mecánica (iSTAT o Lactate Plus). Las variables con los coeficientes de variación más altos, superiores al 20%, en todas las especies son los valores de conteos diferenciales de leucocitos realizados por medición manual. En el pájaro tropical, gaviota de cola bifurcada y pardela de Galápagos los valores de lactato también presentan alta variación, superior al 28%. Las variables sodio y pH medidas con iSTAT presentaron un coeficiente de variación menor al 10% en todas las especies, a excepción de los piqueros de patas rojas para pH. Las medidas de variables bioquímicas realizadas mediante iSTAT tienen una menor variabilidad que las variables hematológicas realizadas manualmente.

Se encontró diferencias significativas entre hembras (n=8) y machos (n=17) de los individuos de fragata común, únicamente para la condición corporal ($t=2.76$, $p=0.011$) (Fig.2). No se encontró diferencias para ninguno otro valor hematológico y bioquímico sanguíneo.

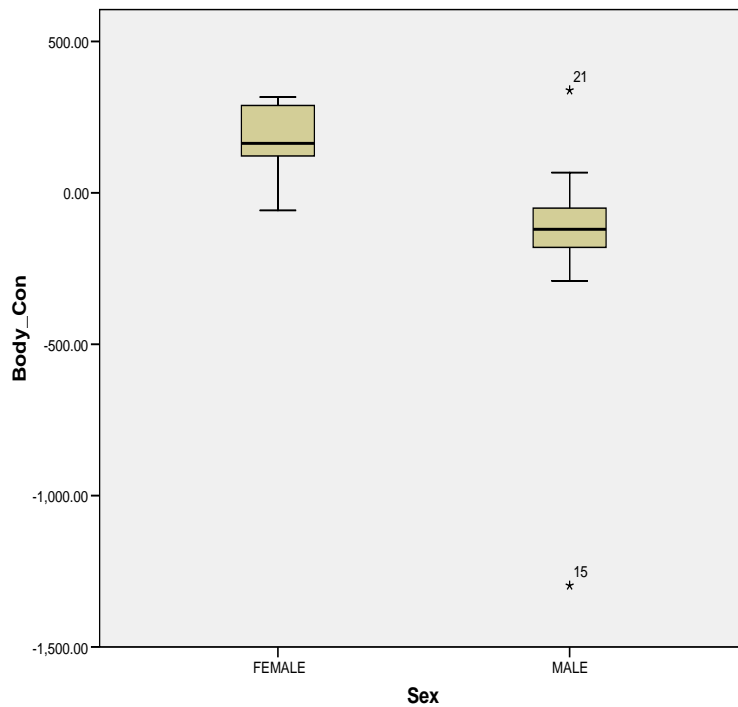
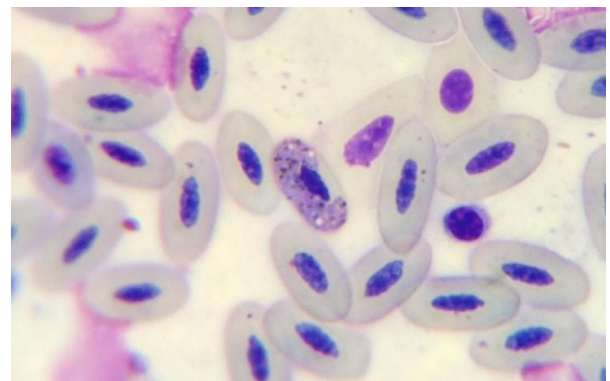


Fig. 15. Diagrama de caja para la condición corporal entre hembras (n=8) y machos (n=17) de fragatas.

Se encontró la presencia de parásitos morfológicamente similares al género *Haemoproteus* sp. (Fig. 3) en 8 de los 25 individuos de fragatas y en ninguna otra especie, equivalente al 32% de prevalencia parasitaria.

Fig. 16. Gametocito de *Haemoproteus* sp. en eritrocito de fragata.



Además, en los frotis sanguíneos de fragata se encontró heterófilos con granulación tóxica (Fig.17) y altamente vacuolizados (Fig.18), ambos signos de reacción del sistema inmune ante una infección.

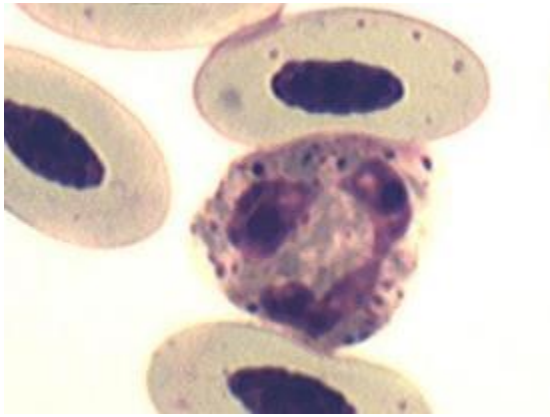


Fig. 17. Heterófilo citotóxico de fragata.

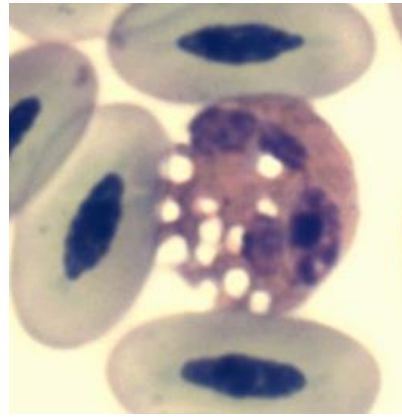
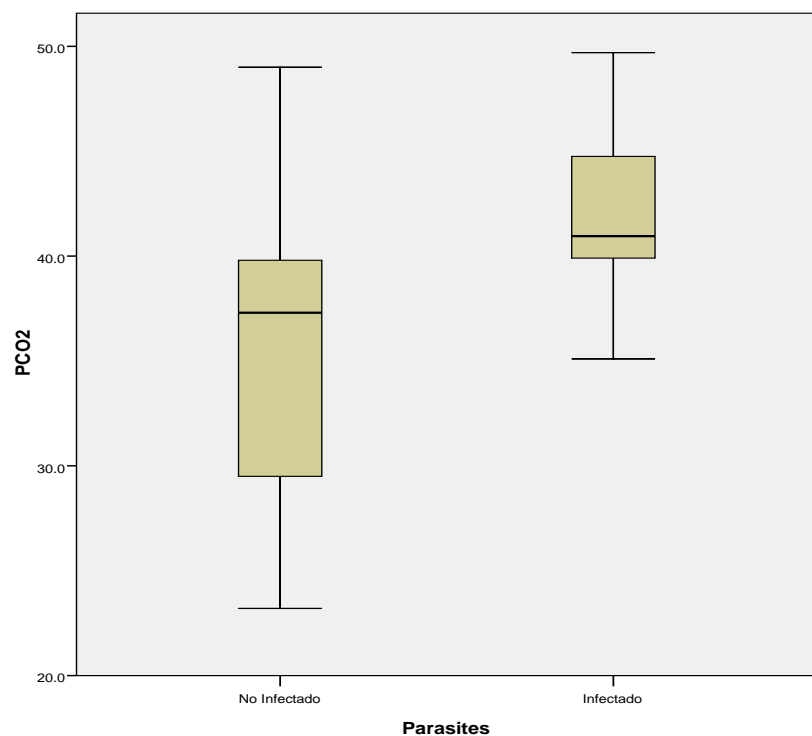


Fig. 18. Heterófilo vacuolado de fragata.

Existe significancia estadística entre individuos infectados ($n=8$) y no infectados ($n=17$) únicamente para la presión parcial de CO_2 , ($t=2.09$, $p=0.048$), (Fig. 4).

Fig. 19. Diagrama de caja para la presión parcial de CO_2 (mmol/L) para individuos infectados ($n=8$) y no infectados ($n=17$) con *Haemoproteus sp*



No se encontró ninguna relación significativa entre la condición corporal y las variables de hematología y química sanguínea para las especies piquero de patas rojas, gaviota de cola bifurcada y pardela de galápagos.

Los individuos de pájaro tropical a través de una correlación de Spearman tuvieron una relación estadísticamente significativa positiva entre las variables condición corporal del ave y proteína total medida manualmente ($n=9$; $r_s = .728$; $p = .026$), (Fig 5).

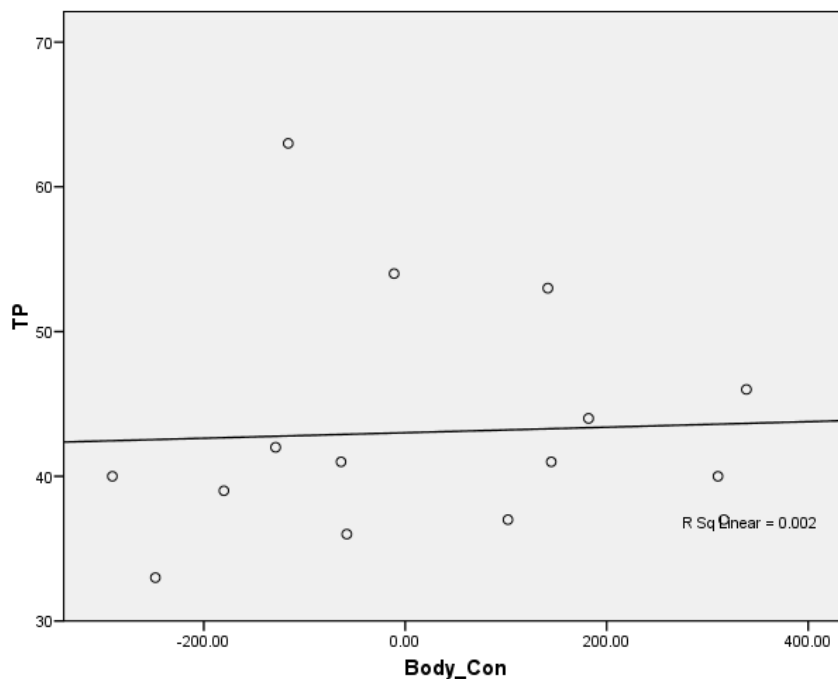


Fig. 20. Regresión lineal entre condición corporal y proteína total (TP) ($n=9$) para pájaros tropicales, $R^2=0.002$.

En los individuos de fragata mediante una correlación de Spearman se encontró una relación estadísticamente significativa negativa entre la condición corporal del ave y la variable de respuesta lactato ($n= 25$, $r_s = -.523$; $p = .007$), (Fig. 6).

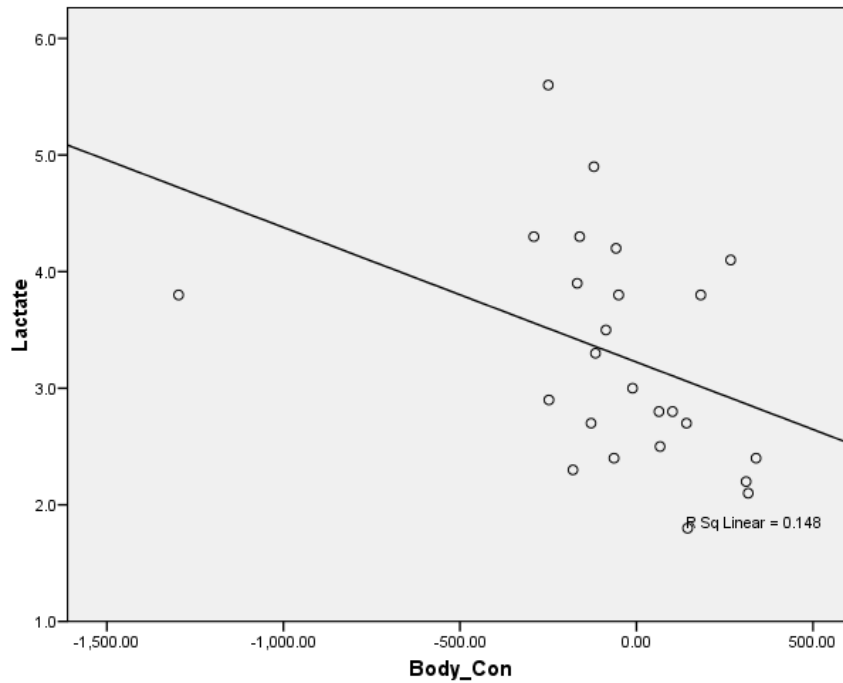


Fig. 21. Regresión lineal entre condición corporal y lactato (n=25) para fragatas, $R^2 = 0.148$.

No se encontró ninguna diferencia significativa en los valores de hematología y química sanguínea entre sexos de fragata controlando el efecto de la condición corporal.

DISCUSIÓN

Los parámetros hematológicos de las aves tienen un amplio rango dado por las diferencias entre las especies de este grupo y pueden fluctuar por factores intrínsecos (edad, género) y extrínsecos (estación, ritmo diurno o nocturno). Al momento de obtener información fisiológica, el ambiente y el manejo de los individuos pueden generar variación en los resultados (Samour, 2006); por esta razón los valores hematológicos reportados son una referencia y no un absoluto, estos reflejan la condición de un grupo de individuos bajo circunstancias específicas.

Los resultados presentados representan el estado de salud de la comunidad de aves marinas de la Isla San Cristóbal, localidad Punta Pitt, durante la temporada seca del 2016 evaluados a través de los valores de hematología y química sanguínea.

Los valores de hematología y química sanguínea de esta investigación son los primeros reportes para las especies pájaro tropical (*Phaethon aethereus*) y pardela de Galápagos (*Puffinus subalaris*). Se evaluó la condición utilizando el ave del trópico de cola roja (*Phaethon rubricauda*) y la pardela del Pacífico (*Puffinus pacificus*) de la comunidad de aves marinas de Hawaii (Work, 1996). Las especies de este estudio comparten las tendencias de valores hematológicos de la comunidad de Hawaii, siendo los valores de linfocitos y heterófilos los leucocitos más abundantes, seguidos por eosinófilos. Sugiriendo que se encuentran igual de saludables que especies similares, pero con diferente historia natural.

Los valores de conteos diferenciales de leucocitos, hematocrito manual, glucosa, calcio iónico, Na^{++} y K^{+} ; reportados en este estudio para las especies fragata común, piquero de patas rojas y gaviota de cola bifurcada son similares a los reportados para la comunidad de

aves marinas de la Isla Genovesa (Padilla et al., 2006), con ciertas observaciones. La especie fragata común de Punta Pitt reporta valores elevados de eosinófilos ($32.12\% \pm 11.62$) en comparación con los valores para la población de la Isla Genovesa ($17.9\% \pm 2.7$) (Padilla et al., 2006). Los eosinófilos corresponden a células del sistema inmune que poseen en el citoplasma gránulos con enzimas que atacan a parásitos (Abbas et al., 2012); valores elevados en una muestra sanguínea coinciden con acción parasitaria. Si bien en ambas poblaciones se reporta el parásito *Haemoproteus sp.*, cabe la observación que la prevalencia parasitaria en el caso de la población de Punta Pitt (32%) es superior al de la población de la Isla Genovesa (29.2%). Al ser evaluados físicamente los individuos no mostraron ninguna señal de patología, puede atribuirse a que el nivel de parasitemia aún es bajo para observar efectos perjudiciales (Work & Rameyer, 1996). La presencia de *Haemoproteus* no tiene que necesariamente generar efectos en la sobrevivencia de los individuos, como ha indicado Knutie et al (2013) en *Columba livia*. No se encontró ninguna diferencia significativa para los valores de hematología entre individuos infectados (n=8) y no infectados (n=17) con *Haemoproteus sp.*, al igual que Work & Rameyer (1996). Lee-Cruz et al. (2015) indica que el aumento en estos valores suele suceder con altos niveles de parasitemia. Por otra parte, al analizar los valores de bioquímica sanguínea, el valor de la presión parcial de CO₂ es utilizado en el diagnóstico de desbalances ácido-base en el cuerpo y el aumento de este valor está relacionado con acidosis respiratoria (Harr, 2006). No se han reportado efectos directos de *Haemoproteus sp.* en los valores de la presión parcial de CO₂, pero hay evidencia de un mayor consumo de glucosa por parte de eritrocitos infectados con *Haemoproteus* (Manwell & Loeffler, 1961) lo cual podría generar desbalances a nivel bioquímico.

La presencia de *Haemoproteus sp.* ha sido evaluada en diferentes especies de fragatas (*F. magnificens* en Madsen et al., 2007.; *F. andrewsi* en Quillfeldt et al. (2010)). Para la fragata común (*F. minor*) de Galápagos se ha identificado la especie *Haemoproteus iwa* y su vector hipobóscido *Olfersia spinifera* (Levin & Parker, 2012). Se han reportado diferentes niveles de prevalencia parasitemia de *H.iwa* en la fragata común; 35% en Hawaii (Work & Rameyer, 1996) y 69% en isla de Navidad (Merino et al. 2012). Dentro del archipiélago también se ha reportado prevalencia de *Haemoproteus. sp* en las tórtolas de Galápagos (42.3%), gaviotas de cola bifurcada (15.8%), piqueros de patas rojas (8.7%) (Padilla et al. 2006) y piqueros de patas azules (33-83%) (Lee-Cruz et al., 2015). La prevalencia parasitaria de *Haemoproteus sp.* puede variar de acuerdo con la forma de evaluación, como reporta Lee-Cruz (2015) al no haber encontrado ninguna señal del parásito en frotis sanguíneos de piquero de patas azules. Sin embargo, al realizar identificación por medio de PCR la prevalencia parasitaria se encontró entre el 33 y 83%.

Para las fragatas de este estudio, no se encontraron diferencias dadas por el sexo para ninguno de los valores de hematología y química sanguínea; aunque si han sido reportados en la literatura mayores niveles de fósforo y calcio en hembras (Work, 1996; Padilla et al., 2006). La diferencia significativa en la condición corporal entre hembras y machos podría explicarse en que las hembras invierten mayor tiempo de incubación que machos (Dearborn, 2011).

Los valores de gases sanguíneos son los primeros reportes para las especies de este estudio en las islas Galápagos, por lo cual no existen parámetros para ser cotejados. El piquero de patas rojas es la única especie en presentar ligera acidosis sanguínea, es decir un valor de pH < 7.35, (7.28 ± 0.56). No es posible realizar un diagnóstico diferencial para

determinar el origen de la acidosis, sea metabólica o respiratoria. Sin embargo, es importante recalcar que posee el segundo valor más bajo de BE_{efc}^+ (-10.033 ± 3.16), y el valor más elevado de lactato (4.197 ± 1.3) de las especies analizadas. Entre las causas de una acidosis metabólica son el aumento de ketonas, lactato, uremia o toxicidad (Waddell, 2012; Harr, 2006).

Respecto de la condición corporal analizada con las variables hematológicas y sanguíneas, en el caso del pájaro tropical la correlación de la condición corporal y la cantidad de proteína total en el plasma es positiva ($n=9$; $r_s = .728$; $p = .026$). Esto indica que cuando mejora la condición corporal de los individuos también aumenta la cantidad de proteína total. En mamíferos, la cantidad de proteína total en plasma es un indicador del estatus nutricional de un individuo (Madhuvanthi & Lathadevi, 2016). En aves, ha sido sugerida como otra forma de evaluar la condición corporal (Dawson & Bortolotti, 1996). Por ejemplo, la espátula común (*Platalea leucorodia*) también ha reportado correlaciones positivas de la cantidad de proteína total de plasma con la condición física del individuo (de le Court, et al. 1995). En fragatas al analizar toda la población se obtuvo una correlación negativa entre la condición corporal y los valores de lactato ($n= 25$, $r_s = -.523$; $p = .007$). La correlación negativa indica que cuando mejora la condición corporal disminuye la cantidad de lactato. El lactato es un metabolito de la vía metabólica anaeróbica, cuando la demanda metabólica del tejido no se logra a través de la respiración aeróbica se genera un aumento en la concentración del lactato (Rathee et al., 2016), entre algunas razones como efecto de actividad física intensa. El cuerpo regresa a homeostasis por acción del hígado y riñones para evitar la acumulación de ácido láctico que genera acidosis láctica. Valores elevados de lactato en individuos con una condición corporal deficiente, podría sugerir funcionamiento

deficiente de ambos órganos (Hochleithner, 1994). En este caso la correlación indica lo contrario, los individuos con mejor condición corporal tienen los menores niveles de lactato.

CONCLUSIONES

Desde un punto de vista general, las aves de la comunidad de Punta Pitt mantienen sus valores dentro de rangos estables para los valores de hematología. En el caso de la fragata común los individuos con infección por *Haemoproteus sp.* aparentemente no exhiben muestras de físicas de enfermedad, pero pueden ser reservorios asintomáticos. Es importante mantener el monitoreo de parásitos ya que las fragatas se desplazan a lo largo de los mares tropicales y al igual que las aves migratorias que pasan por las Islas Galápagos pueden portar otras enfermedades. Una evaluación de la salud en diferentes temporadas puede contribuir a conocer si hay un efecto por la disponibilidad del vector *Olfersia spinifera*. Cabe recalcar que reportar valores de química sanguínea permitirán entender la interacción parásito-huésped en animales de vida silvestre.

La técnica de análisis químico sanguíneo por medio de iSTAT, es una de las mejores alternativas para obtener información *in situ* y con el menor efecto en los animales ya que para su análisis es necesario menos de 1 ml de sangre para obtener los valores de bioquímicos.

Los conocimientos fisiológicos de las especies de aves marinas de Punta Pitt permitirán entender con mayor profundidad y de forma más acertada, los efectos de eventos naturales, cambio climático, enfermedades y contaminación ambiental que experimentarán las aves marinas de Galápagos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., Lichtman, A.H. & Pillai, S. (2012). *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia: Elsevier.
- Alava, J., Palomera, C., Bendell, L. & Ross, P. (2014). Pollution as an Emerging Threat for the Conservation of the Galapagos Marine Reserve: Environmental Impacts and Management Perspectives. In Denkinger, J. & Vinuesa, L. *The Galapagos Marine Reserve, Social and Ecological Interactions in the Galapagos Islands* (247-283). New York: Springer Science + Business Media.
- Croxall, J., Butchart, S., Lascelles, B., Stattersfield, A., Sullivan, B., Symes, A. & Taylor, P. (2012). Seabird conservation status, threats, and priority actions: a global assessment. *Bird Conservation International*, 22, 1-34.
- Claver, J.A. & Quaglia, A. (2009). Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*. Vol 18:87-97.
- Davis, A., Maney, D. & Maerz, J. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologist. *Functional Ecology*, 22, 760-722.
- Dawson, R. & Bortolotti, G. (1996). Total plasma protein level as an indicator of condition in wild American kestrels (*Falco sparverius*). *Canadian Journal of Zoology*, 75, 680-686.
- de le Court, C., Aguilera, E. & Recio, F. (1995). Plasma chemistry values of free-living white spoonbills (*Platalea leucorodia*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112 (1), 137-141.

- Dearborn, D. (2001). Body condition and retaliation in the parental effort decisions of incubating great frigatebirds (*Fregata minor*). *Behavioral Ecology*, 12 (2), 200-206.
- Downs, C. & Stewart, K. (2014). A primer in ecoimmunology and immunology for wildlife research and management. *California Fish and Game*, 3, 371-395.
- Ellenberg, U., Setiawan, A., Cree, A., Houston, D. & Seddon, P. (2007). Elevated hormonal stress response and reduced reproductive output in Yellow-eyed penguins exposed to unregulated tourism. *General and Comparative Endocrinology*, 152, 54-63.
- Fessl, B., Sinclair, B. & Kleindorfer, S. (2006). The life-cycle of *Philornis downsi* (Diptera: Muscidae) parasitizing Darwin's finches and its impacts on nestling survival. *Parasitology*, 133, 739-747.
- Harr, K. (2006). Diagnostic Value of Biochemistry. In: Avian Medicine. Volume II. Chapter 23. Harrison G. y Lightfoot, T. Spix Publishing Inc. Palm Beach, FL. Pp 587-610.
- Halpern, B., Walbridge, S., Selkoe, K., Kappel, C., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J., Casey, K., Ebert, C., Fox, H., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H., Madin, E., Perry, M., Selig, E., Spalding, M., Steneck, R. & Watson, R. (2008). A Global Map of Human Impact on Marine Ecosystems. *Science*, 319, 948-952.
- Hochleithner, M. (1994). Chapter 11: Biochemistries. In Ritchie, B., Harrison, G. & Harrison, L. *Avian Medicine, Principles and Application* (221-245). Florida: Wingers Publishing
- Hoegh-Guldberg, O. & Bruno, J. (2010). The impact of climate change on the World's Marine Ecosystems. (2010). *Science*, 328, 1523-1528.

- Knutie, S.A., Waite, J.L. & Clayton, D.H. (2013). Does avian malaria reduce fledging success: an experimental test of the selection hypothesis. *Evolutionary Ecology*, 27, 185-191.
- Labocha, M. & Hayes, J. (2012). Morphometric indices of body condition in birds: a review. *Journal of Ornithology*, 153, 1-22.
- Lee-Cruz, L., Cunningham, A., Martínez, P., Cruz, M., Goodman, S. & Hamer, K. (2016). Prevalence of *Haemoproteus sp.* in Galápagos blue-footed boobies: effects on health and reproduction. *Parasitology Open*, 2, 1-10.
- Levin, I., Valkiunas, G., Iezhova, T., O'Brien, S. & Parker, P. (2012). Swallow-tailed gull (Lariidae), with remarks on the host range of hippoboscid-transmitted avian hemoproteids. *The Journal of Parasitology*, 98, 847-854.
- Levin, I. & Parker, P. (2012). Prevalence of *Hemoproteus iwa* in Galapagos Great Frigate Bird (*Fregata minor*) and their obligate fly ectoparasite (*Olfersia spinifera*). *The Journal of Parasitology*, 98, 924-929.
- Lormeé, H., Jouventin, P., Trouve, C. & Chastel, O. (2003). Sex-specific patterns in baseline corticosterone and body condition changes in breeding Red-footed Boobies *Sula sula*. *Ibis*, 145, 212-219.
- Madhuvanthi, M. & Lathadevi, G.V. (2016). Serum Protein Alteration in Association with Body Mass Index in Human Volunteers. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10, CC05-CC07.

- Mallory, M., Robinson, S., Hebert, C. & Forbes, M. (2010). Seabirds as indicators of aquatic ecosystem conditions: A case for gathering multiple proxies of seabird health. *Marine Pollution Bulletin*, 60, 7-12.
- Manwell, R.D. & Loeffler, C.A. (1961). Glucose Consumption by *Haemoproteus columbae*. *The Journal of Parasitology*, 47, 285-290.
- Merino, S., Hennicke, J., Martínez, J., Ludynia, K., Torres, R., Work, T., Stroud, S., Masello, J.F. & Quillfeldt, P. (2012). Infection by *Haemoproteus* parasites in four species of Frigatebirds and the description of a new species of *Haemoproteus* (Haemosporidia: Haemoproteidae). *The Journal of Parasitology*, 98, 388-397.
- Merkel, J., Jones, H., Whiteman, N., Gottdenker, N., Vargas, H., Travis, E., Miller, E. & Parker, P. (2007). Microfilariae in Galápagos Penguins (*Spheniscus mendiculus*) and flightless cormorants (*Phalacrocorax harrisi*): Genetics, morphology, and prevalence. *The Journal of Parasitology*, 93, 495-503.
- Newman, S., Piatt, J. & White, J. (1997). Hematological and Plasma Biochemical Reference Ranges of Alaskan Seabirds: Their Ecological Significance and Clinical Importance. *Colonial Waterbirds*, 20, 492-504.
- Padilla, L., Huyvaert, K., Merkel, J., Miller, E. y Parker, P. (2003). Hematology, plasma chemistry, serology, and Clamydophila status of the waved albatros (*Phoebastria irrorata*) on the Galapagos Islands. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 34(3), 278-283.

- Padilla, L., Whiteman, N., Merkel, J., Huyvaert, K.P. & Parker, P. (2006) Health Assessment of Seabirds on Isla Genovesa, Galápagos Islands. *Ornithological Monographs*, 60, 86-97.
- Paleczny, M., Hammill, E., Karpouzi, V. & Pauly, D. (2015). Population Trend of the World's Monitored Seabirds, 1950-2010. *PLoS ONE*, 10 (6), e0129342.
doi:10.1371/journal.pone.0129342.
- Pierce, K., Harris, R., Larned, L. & Pokras, M. (2004). Obstruction and starvation associated with plastic ingestion in a northern gannet *Morus bassanus* and a great shearwater (*Puffinus gravis*). *Marine Ornithology*, 32, 187-189.
- Quillfeldt, P., Martinez, J., Hennicke, J., Ludynia, K., Gladbach, A., Masello, J.F., Riou, S. & Merino, S. (2010). Hemosporidian blood parasites in seabirds-A comparative genetic study of species from Antarctic to tropical habitats. *Naturwissenschaften*, 97, 809-817.
- Rathee, K., Dhull, V., Dhull, R. & Singh, S. (2016). Biosensors based on electrochemical lactate detection: A comprehensive review. *Biochemistry and Biophysics Report*, 5, 35-54.
- Samour, J. (2006). Diagnostic Value of Hematology. In: *Avian Medicine. Volume II*. Chapter 22. Harrison G. y Lightfoot, T. Spix Publishing Inc. Palm Beach, FL. Pp 587-610.
- Siers, S., Merkel, J., Bataille, A., Vargas, F. & Parker, P. (2010). Ecological Correlates of Microfilariae Prevalance in Endangered Galápagos Birds. *The Journal of Parasitology*, 96, 259-272.
- Sydeman, W., Thompson, S.A. & Kitaysky, A. (2012). Seabirds and climate change: roadmap for the future. *Marine Ecology Progress Series*, 454, 107-117.

- Thrall, M., Weiser, G., Allison, R. & Campbell, T. (2012). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Vleck, C.M., Vortalino, N., Vleck, D. & Bucher, T.L. (2000). Stress, corticosterone, and heterophile to lymphocyte ratios in free-living Adélie penguins. *The Condor*, 102, 392-400.
- Walsh, S., McCleary, A., Heumann, B. & Brewington, L. (2010). Community Expansion and Infrastructure Development: Implications for Human Health and Environmental Quality in the Galapagos Islands of Ecuador. *Journal of Latin American Geography*, 9, 137-159.
- Waddell, L. (2012). Blood Gas Analysis. *NAVC Clinician's Brief*. January, 18-19.
- Wayland, M., Gilchrist, H., Marchant, T., Keating, J. & Smits, J. (2002). Immune Function, Stress Response, and Body Condition in Artic-Breeding Common Eiders in Relation to Cadmium, Mercury, and Selenium Concentrations. *Environmental Research Section*, A 88.
- Weiser, G. (2012). Chapter1: Laboratory Technology for Veterinary Medicine. In Thrall, M.; Weiser, G.; Allison, R.; Campbell, T. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (3-33). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Wikelski, M., Foufopoulos, J., Vargas, H. & Snell, H. (2004). Galápagos Birds and Diseases: Invasive Pathogens as Threats for Island Species. *Ecology and Society*, 9(1), 5.
- Work, T. (1996). Weights, Hematology, and Serum Chemistry of Seven Species of Free-Ranging Tropical Pelagic Seabirds. *Journal of Wildlife Diseases*, 32(4), 643-657.

Work, T. (1999). Weights, Hematology, and Serum Chemistry of Free Ranging Brown Boobies (*Sula leucogaster*) in Johnston Atoll, Central Pacific. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 30, 81-84.

Work, T. & Rameyer, R. (1996). *Haemoproteus iwa* n. sp. in Great Frigatebirds (*Fregata minor*) from Hawaii: Parasite Morphology and Prevalence. *The Journal of Parasitology*, 82, 489-491.

ANEXO A: MATERIALES

1. Obtención de muestras y análisis en campo

Captura de aves.

- Guantes de cuero
- Bastón
- Pañuelo
- Marcador

Evaluación de aves in situ

- Termómetro veterinario
- Reloj
- Estetoscopio

Toma de muestras de sangre

- Jeringas 1ml y 3ml
- Agujas hipodérmicas 20 G x 38 mm
- Heparina de sodio (1 mg/mL)
- Alcohol
- Placas de frotis
- Tubos Eppendorf de 1 mL
- Enfriador portátil
- Paquetes de hielo

Análisis sanguíneos in situ

- iSTAT
- Cartuchos CG8+ para iSTAT
- Analizador de ácido láctico *Lactate-Plus*
- Tiras de ensayo para analizador *Lactate-Plus*

Registro morfométrico

- Flexómetro
- Calibrador digital
- Pesolas de 50 g, 100 g, 500 g, 1000 g y 2500 g.
- Bolsas de tela, grande y pequeña

Toma de muestras de plumas

- Bolsas ziplock

Toma de muestras de aceite de la glándula uropígia

- Viales de vidrio estéril
- Espátula de metal estéril

2. Análisis en laboratorio

Conteo estimados y diferenciales de glóbulos blancos, evaluación de parásitos.

- Tinción Diff Quick
- Agua destilada
- Contador de células mecánico

- Microscopio
- Cámara de microscopio
- Aceite de inmersión

Hematocrito

- Capilares
- Centrífuga
- Cera
- Tarjeta de lectura de hematocrito

El hematocrito se determinó llenando del 70% al 90% los tubos de microhematocrito con sangre por acción capilar. El extremo inferior se cerró con cera y se procedió a centrifugar a 8 RVP durante 10 minutos. En este procedimiento la fuerza centrífuga comprimió y retiró el plasma de las capas de células con lo cual fue posible observar tres capas; plasma en el extremo superior, eritrocitos compactados en el extremo inferior y en medio la capa leucocitaria. Se utilizó una tarjeta de lectura de hematocrito para obtener el valor final (Weiser, 2012).

Proteína Total

- Refractómetro

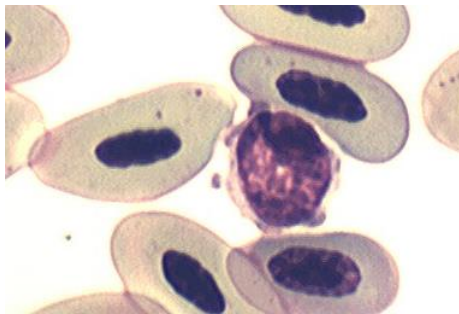
La proteína total fue medida por medio de refractometría utilizando la columna de plasma del tubo de microhematocrito. Se quebró el tubo y se colocó la porción de plasma sobre el refractómetro. El tubo se sostuvo de forma que la luz natural pase por el prisma con la muestra de plasma y la luz refractada se lea en la escala del refractómetro (Weiser, 2012).

ANEXO B: IDENTIFICACIÓN DE LEUCOCITOS.

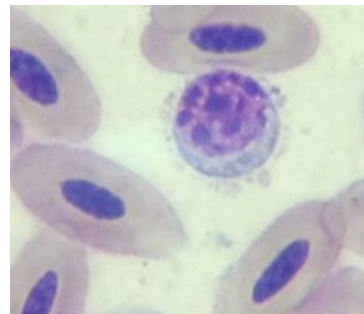
1. Linfocitos

Incluyen a las células T, que regulan el sistema inmune; las células B, que producen anticuerpos; y las células NK, que eliminan células infectadas con virus (Abbas et al., 2012). Tienen una forma redonda a irregular, que puede variar de grande a pequeña (Thrall et al., 2012). Es clave para su identificación tomar en cuenta el alto radio núcleo:citoplasma. La forma del núcleo es redonda con color morado, presenta mayor coloración la cromatina apretada y reticulada que se observa en linfocitos maduros (Thrall et al., 2012). El citoplasma varía en cantidad desde escaso en los bordes a abundante, tiene apariencia homogénea sin gránulos o vacuolas. Y con una coloración que varía de pálido azul a azul.

Los linfocitos grandes pueden confundirse con monocitos, pero se pueden diferenciar por el radio núcleo:citoplasma. Los linfocitos pequeños pueden confundirse con trombocitos de citoplasma escaso. Los linfocitos aviares se caracterizan por poseer proyecciones irregulares.



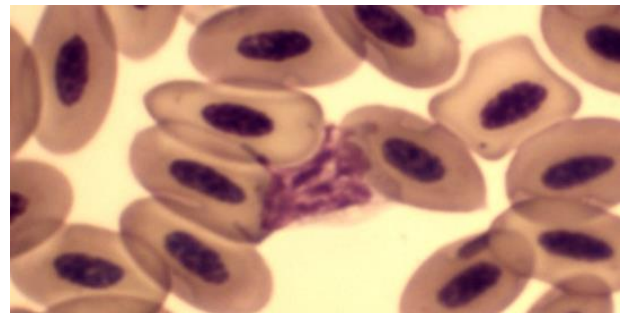
Linfocito de fragata común.



Linfocito de piquero de patas rojas.

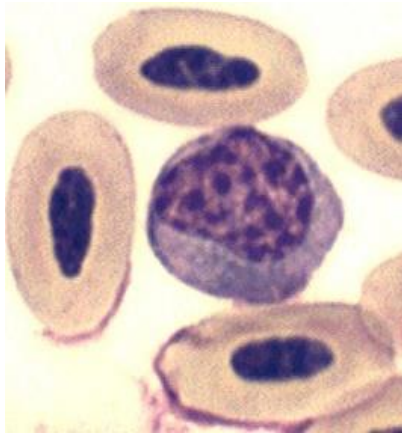


Linfocito con citoplasma escaso de piquero

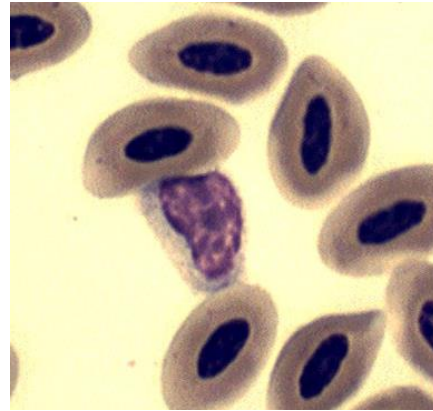


Linfocito de pájaro tropical.

de patas rojas.



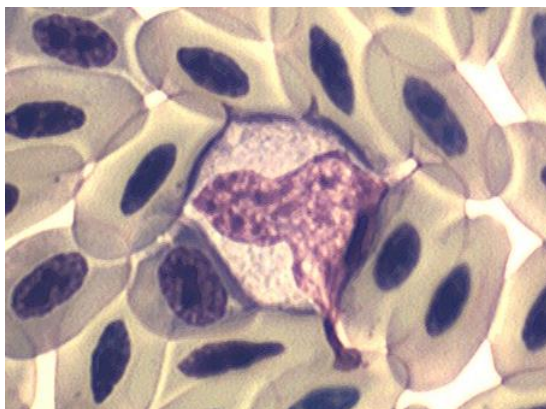
Linfocito de pardela de Galápagos.



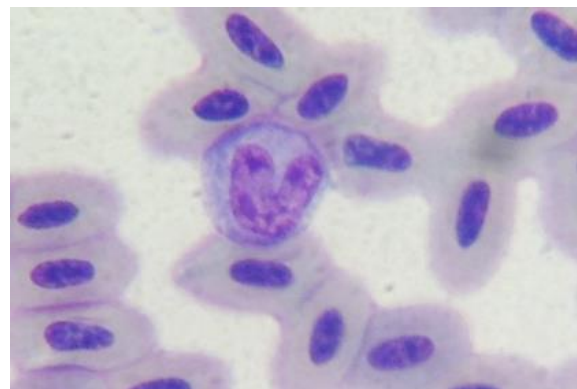
Linfocito de gaviota de cola birfucada.

2. Monocitos

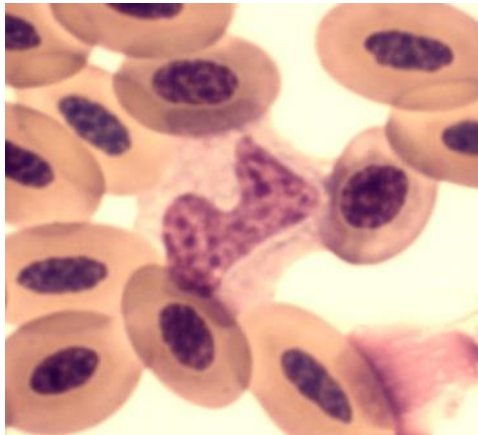
Se caracterizan por tener actividad fagocítica y migrar a los tejidos para convertirse en macrófagos (Abbas et al., 2012). Típicamente tienen una forma redonda que tiende a ser ameboide y son el leucocito de mayor tamaño (10-15 μm) (Thrall et al., 2012). El núcleo tiende a adquirir una forma de redonda a lobulada, con forma de riñón; y tiene un color más pálido en comparación con el de un linfocito. El citoplasma es abundante puede tener vacuolas o gránulos pequeños ligeramente visibles, tiene un color azul grisáceo (Thrall et al., 2012). Se pueden diferenciar de los linfocitos de mayor tamaño, por el color pálido del citoplasma.



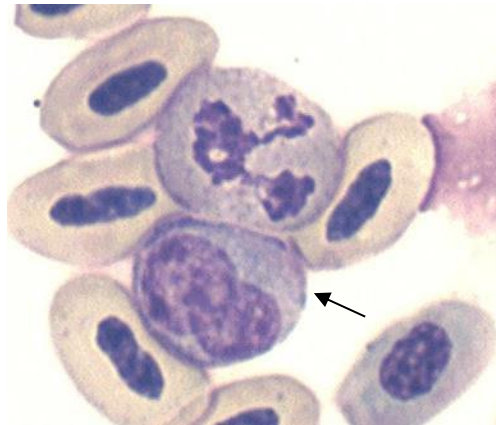
Monocito de fragata común.



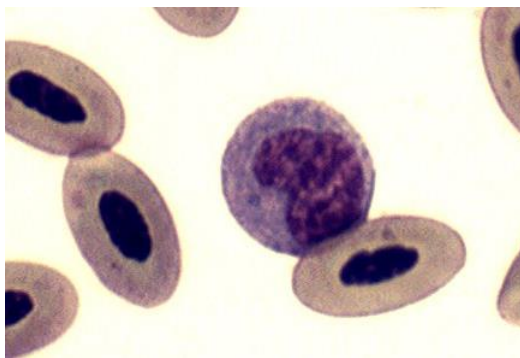
Monocito de piquero de patas rojas.



Monocito de pájaro tropical.



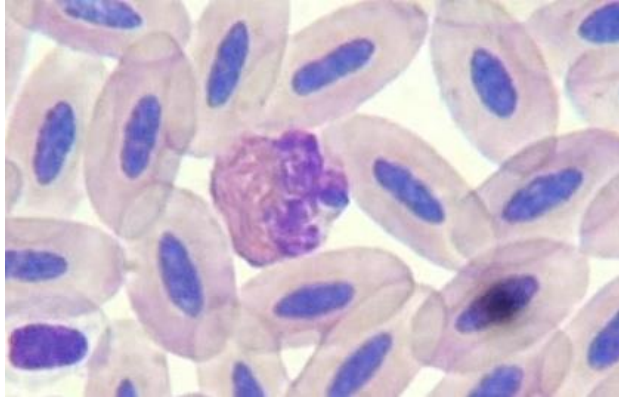
Monocito de pardela de Galápagos.



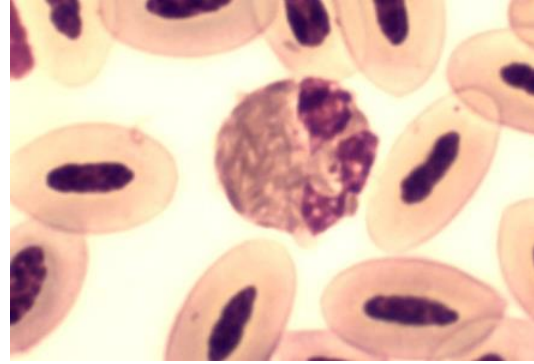
Monocito de gaviota de cola bifurcada.

3. Heterófilos

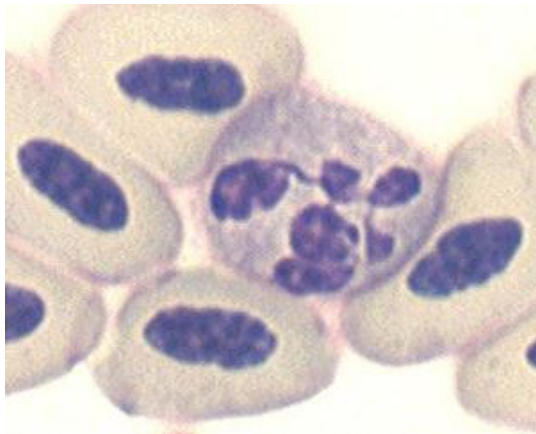
Poseen actividad fagocítica y se encuentran activos en lesiones inflamatorias (Abbas et al., 2012). Tienen forma variable y pueden ser considerados redondos deformados (Claver & Quaglia, 2009), tienden a ser específicos para cada especie ($\sim 8.8 \mu\text{m}$). El núcleo es lobulado, puede tener de 2 a 3 lóbulos (Thrall et al., 2012). La cromática apretada puede adquirir un color morado que se puede encontrar detrás de los gránulos del citoplasma. El citoplasma carece de color, posee gránulos con lisozima que van tienen una forma elongada hasta redonda, y con un color naranja oscuro o rojo (Thrall et al., 2012). Son el granulocito más abundante en la sangre.



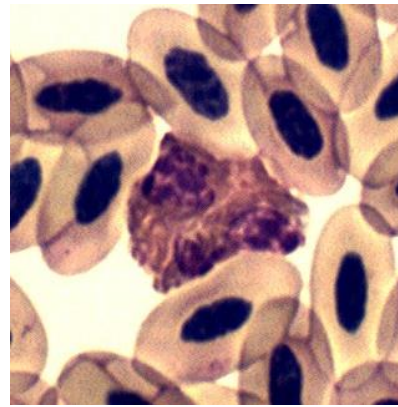
Heterófilo de piquero de patas rojas



Heterófilo de pájaro tropical.



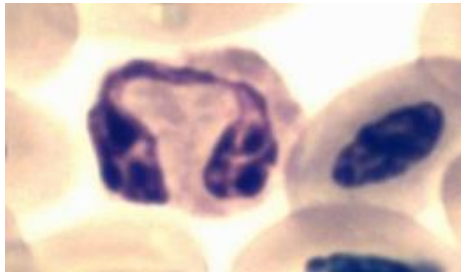
Heterófilo de pardela de Galápagos



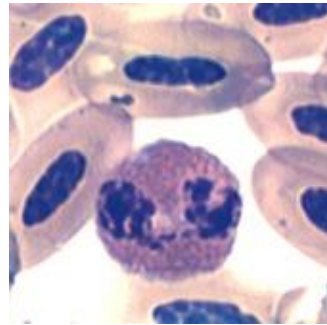
Heterófilo de gaviota de cola bifurcada

4. Eosinófilos

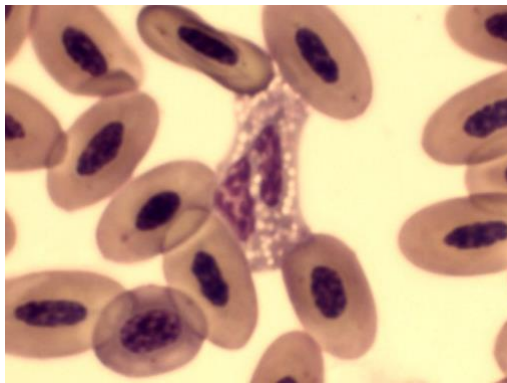
Poseen gránulos en el citoplasma con enzimas que atacan a parásitos, no se conoce del todo su función (Abbas et al., 2012). Pueden tener tamaños similares a los heterófilos o ligeramente menores ($\sim 7.9 \mu\text{m}$), y también son especie específicos (Claver & Quaglia, 2009). Poseen un núcleo lobulado, con un color más oscuro que el de un heterófilos, eosinofílico, de ahí su nombre. El citoplasma es ligeramente azulado, los gránulos son redondos a ovalados y de color variable (Thrall et al., 2012). A partir de estos es posible diferenciarlos de heterófilos.



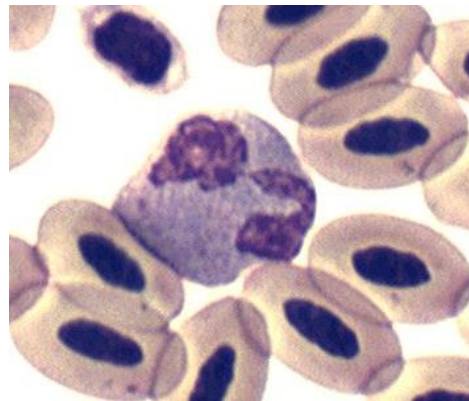
Eosinófilo de fragata.



Eosinófilo de piquero de patas rojas.



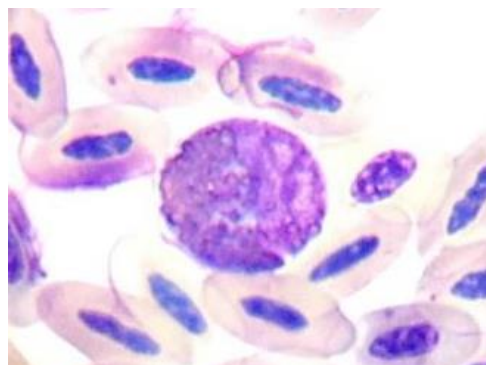
Eosinófilo de pájaro tropical.



Eosinófilo de gaviota de cola bifurcada.

5. Basófilos

Se conoce que tienen un rol en la inflamación aguda y en la reacción de hipersensibilidad tipo IV (Abbas et al., 2012). Son de menor tamaño que un eosinófilo o heterófilo y su núcleo es redondo y de coloración oscura (Thrall et al., 2012). Posee gránulos de color rojo a morado.



Basófilo de piquero de patas rojas.