

205-7408

TUCHVET
HARDET
1992
C-3

Biblioteca Prof. Ramón Rodríguez-Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

DETERMINACION DE ALGUNOS CONSTITUYENTES PATOLOGICOS Y DE
DETERMINACION DE ALGUNOS CONSTITUYENTES HEMATOLOGICOS Y DE
QUIMICA SANGUINEA DEL PINGÜINO DE HUMBOLDT (*Spheniscus humboldti*)
EN ESTADO SILVESTRE Y EN CAUTIVIDAD.

RODRIGO HARGREAVES ALVAREZ

Memoria para optar al título
profesional de Médico Veterinario.
Departamento de Patología Animal.

Biblioteca Prof. Ramón Rodríguez-Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias

PROFESOR GUIA: Dra. GLADYS VILLOUTA C.

2057
SANTIAGO - CHILE
SANTIAGO - CHILE

1992

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

DETERMINACION DE ALGUNOS CONSTITUYENTES HEMATOLOGICOS Y DE
QUIMICA SANGUINEA DEL PINGUINO DE HUMBOLDT (*Spheniscus humboldti*)
EN ESTADO SILVESTRE Y EN CAUTIVIDAD

RODRIGO HARGREAVES ALVAREZ

Memoria para optar al título
profesional de Médico Veterinario.
Departamento de Patología Animal.

		Calificación
Profesor Guía	: GLADYS VILLOUTA C.	7,0 (siete, cero) <i>gladys villouta</i>
Profesor Consejero	: SERGIO ROSENDE O.	7,0 (siete, cero) <i>Sergio Rosende</i>
Profesor Consejero	: JULIO VALDERAS G.	7,0 (siete, cero) <i>Julio Valderas</i>
Profesor Colaborador	: VICTOR RIVEROS	

SANTIAGO - CHILE

1992

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer especialmente a la doctora Gladys Villalba, por todo el apoyo, confianza y ayuda que me brindó, por la dedicación que demostró en todo este estudio, por la entrega de sus conocimientos, por sus consejos, por su sensibilidad. MICHAEL GARCÍA.

También agradezco al doctor Pío Rivera, por haber confiado en mí y abrirme las puertas del Zoológico, permitiendo de esta manera concretar esta tesis. Al igual agradezco a la Corporación Nacional Forestal (CONAF) y al Servicio Nacional de Pesca (SERPES), instituciones que autorizaron la captura de los pingüinos.

Agradezco la ayuda y hospitalidad de Paula Segovia, Fernando Ampuero y Rosa Vergara, y los consejos y colaboración de los doctores, Wilhelm Rudolph, Gustavo Montes, Valeria Rojas, Julio Valdeveras, Sergio Rosendo, María Angélica Morales y Carlos Alvear.

Mi reconocimiento de gratitud también para los pescadores de la localidad de Cachagua A MI MADRE y de puente entre mis intenciones y el resultado A MIS HERMANOS Y ABUELA. También agradezco toda la A MIS AMIGOS DE HOY Y SIEMPRE los trabajadores del Zoológico del Parque Metropolitano "San Cristóbal".

En forma muy especial, quisiera agradecer también a mi familia y a todos mis amigos, que han estado conmigo.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer especialmente a la doctora Gladys Villouta, por todo el apoyo, confianza y ayuda que me brindó, por la dedicación que demostró en este estudio, por la entrega de sus conocimientos, por sus consejos, por su sensibilidad, MUCHAS GRACIAS...

También agradezco al doctor Victor Riveros, por haber confiado en mí y abrirme las puertas del Zoológico, permitiendo de esta manera concretar esta tesis. Al igual agradezco a la Corporación Nacional Forestal (CONAF) y al Servicio Nacional de Pesca (SERNAP), instituciones que autorizaron la captura de los pingüinos.

Agradezco la ayuda y simpatía de Paula Segovia, Fernando Ampuero y Rosa Vergara, y los consejos y colaboración de los doctores, Wilhelm Rudolph, Gustavo Montes, Valeria Rojas, Julio Valderas, Sergio Rosende, María Angélica Morales y Carlos Alvear.

Mi reconocimiento de gratitud también para los pescadores de la localidad de Cachagua, por servir de puente entre mis intenciones y el resultado final de este trabajo, del mismo modo agradezco toda la ayuda que me brindaron los trabajadores del Zoológico del Parque Metropolitano "San Cristobal".

En forma muy especial, quiero agradecer también a mi Familia y a todos mis Amigos, que han estado conmigo.

Gracias por ayudarme a crecer como persona, gracias por permitirme depositar en ustedes todo el amor que tengo, sinceramente GRACIAS.

Y para finalizar, no puedo dejar de agradecer a quienes fueron mis colaboradores más directos en esta tesis, a los pingüinos de Humboldt. Para ustedes mi más profundo respeto y mi eterno agradecimiento.

GRACIAS

THALIE GIRÓN

INDICE

DIOS

En mi más remota antigüedad, subí a la montaña sagrada y dije a Dios: "Amo, soy tu esclavo. Tu voluntad es mi ley, y siempre te obedeceré". Pero él no respondió; pasó de largo como una incontenible tempestad. Mil años después, subí nuevamente a la montaña y dije a Dios: "Creador, soy tu criatura. Con barro me hiciste, y te debo cuanto soy". Pero él no respondió; pasó de largo como un pájaro gigantesco. Y mil años más tarde, subí otra vez a la montaña y dije a Dios: "Padre, soy tu hijo. Tu amor me dio la vida, y con la adoración alcanzaré tu reino". Pero él no respondió; pasó de largo como una niebla en viaje. Y al cabo de otros mil años, subí una vez más a la montaña sagrada y dije a Dios: "Dios mío, mi anhelo y mi plenitud, soy tu ayer y eres mi mañana. Soy tu raíz y tú eres mi flor, y juntos creceremos al calor del sol". Y él se inclinó sobre mí, y me habló en un susurro, con inmensa dulzura. Y como el mar cuando envuelve al arroyo que va en su busca, Dios me abrazó. Y cuando bajé hasta el valle y la llanura, ví que también allí estaba Dios.

KHALIL GIBRAN

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	5
OBJETIVOS.....	22
MATERIAL Y METODO.....	23
RESULTADOS.....	32
DISCUSION.....	48
CONCLUSIONES.....	62
ANEXO.....	63
BIBLIOGRAFIA.....	69

RESUMEN

Se trabajó con 15 pingüinos de Humboldt adultos clínicamente sanos, capturados desde el Monumento Nacional "Isla de Cachagua" (V Región), con la autorización previa de los organismos oficiales encargados de su protección. Las aves fueron mantenidas posteriormente en el Zoológico del Parque Metropolitano, "San Cristóbal". De cada una de ellas se obtuvo dos muestras de sangre con anticoagulante, para las determinaciones del hemograma y química sanguínea, al tercer día de capturadas, y repitiéndose a la tercera, séptima y décimoquinta semanas. Los resultados obtenidos en los sucesivos controles fueron analizados estadísticamente, para detectar posibles cambios durante la adaptación a la cautividad y poder establecer valores preliminares de referencia.

Los análisis hematológicos revelaron que en el pingüino de Humboldt, al igual que lo descrito en otras especies de pingüinos, la cantidad de eritrocitos/ul de sangre es muy baja en relación a los mamíferos, pero, presentando un gran tamaño celular. Esta característica da como resultado que la hemoglobina, el volúmen globular aglomerado y la concentración de hemoglobina corpuscular media sean comparables a lo descrito en mamíferos.

El recuento diferencial de leucocitos demostró que los heterófilos fueron los leucocitos más abundantes, seguidos

por los linfocitos, en tanto que monocitos, eosinófilos y basófilos se presentaron en bajas concentraciones y con grandes variaciones individuales.

Los constituyentes de química sanguínea del pingüino de Humboldt presentaron ciertas diferencias en relación a lo descrito en otras especies. Se observó también, un aumento significativo de la concentración de aspartato amino transferasa, al comparar los valores iniciales post captura con los determinados en cautividad.

En general, los resultados de este estudio demuestran que los constituyentes celulares y químicos sanguíneos obtenidos en cautividad fueron comparables con aquellos determinados en estado silvestre.

Instituciones nacionales como CONAF, el Servicio Nacional Forestal, e internacionales como la Wildlife Society de Nueva York, han manifestado un gran interés en el estudio del pingüino de Humboldt, a través de programas de conservación tendientes a obtener registros científicos sobre (abundancia poblacional, patrones reproductivos y características de las áreas de nidificación).

En consecuencia, se espera que exista un incremento en las investigaciones realizadas en el campo de la fisiología, obedeciendo a múltiples actividades que, a partir de la información existente, se hacen de carácter científico para especies una nueva fuente de recursos naturales.

1. INTRODUCCION

Uno de los grupos de aves que sin lugar a dudas despierta una gran simpatía en la gente son los pingüinos, pero, a pesar de ello es muy poco lo que se conoce de estas aves en Chile. De las 17 especies que comprende esta familia, el pingüino de Humboldt (**Spheniscus humboldti**), clasificado como especie "VULNERABLE" según el "Libro rojo de los vertebrados terrestres de Chile" (Glade, 1988), es la especie menos estudiada. En los últimos años se ha detectado un aumento en la mortalidad de esta especie, lo que se ha comprobado por la gran cantidad de pingüinos muertos y agónicos que se encuentran en las playas del litoral central de nuestro país.

Instituciones nacionales como CONAF (Corporación Nacional Forestal) e internacionales como la Sociedad Zoológica de Nueva York, han manifestado especial interés en el estudio del pingüino de Humboldt, a través de un proyecto de conservación tendiente a obtener registros nacionales sobre evaluación poblacional, períodos reproductivos y caracterización de las áreas de nidificación.

En general, hoy en día existe un incremento en las investigaciones realizadas en el campo de la vida silvestre, obedeciendo a múltiples motivaciones como la escasa información existente, el hecho de descubrir en estas especies una nueva fuente de recursos naturales, o con el

objetivo de conocer un poco más de su biología, fisiología, comportamiento e interacción con su medio ambiente. Con ello se podrán generar planes de manejo eficientes que ayuden a protegerlas y preservarlas, en especial aquellas especies en peligro inminente de extinción y resguardar su patrimonio genético.

De esta forma, la presente memoria de título tiene como finalidad hacer un aporte al conocimiento del pingüino de Humboldt, del cual existe poca información, en relación a sus constituyentes celulares y químicos sanguíneos en estado natural y en cautiverio. La información que se obtenga servirá de referencia a futuras investigaciones productivas, reproductivas y clinicopatológicas tendientes a su preservación.

Los pingüinos pertenecen a la familia Spheniscidae, la cual comprende 17 especies que habitan mundialmente en el hemisferio sur y se distribuyen en las costas del continente antártico y adyacente las zonas subtropicales de los Océanos Índico, Atlántico y Pacífico. Se los encuentra en Australia, Sudáfrica y oriental de Sudamérica, principalmente en el Tropic de Capricornio y por la costa occidental del último continente a lo largo hasta la línea equatorial (ver: Pingüinos Galapagos: Goodall y cols., 1981).

Los pingüinos han evolucionado de tal manera que se han adaptado perfectamente a la vida acuática. Ver Goodall y cols., 1981.

REVISION BIBLIOGRAFICA

I EL PINGÜINO: CARACTERISTICAS GENERALES.

Los pingüinos se describen como uno de los grupos de aves más antiguos del mundo; los hallazgos de algunas especies fósiles encontradas en la Patagonia y Antártida, revelarían edades de hasta 40 millones de años. En un principio, los primeros navegantes españoles les llamaron a estas poblaciones de aves "pájaros bobos"; posteriormente, adquirieron el nombre de pingüinos, como son conocidos actualmente, nombre dado por los ingleses debido a la similitud de estas aves con las "Alcas" o "Pingüinos del norte", del Atlántico norte, ya exterminadas y que poseían aletas y eran incapaces de volar (Sallaberry, 1982).

Los pingüinos pertenecen a la familia spheniscidae, la cual comprende 17 especies que habitan exclusivamente en el hemisferio sur y su distribución se extiende por las costas del continente Antártico y en todas las islas subantárticas de los Océanos Indico, Atlántico y Pacífico. En las costas de Australia, Sudáfrica y oriental de Sudamérica llegan hasta el Trópico de Capricornio y por la costa occidental de este último continente alcanzan hasta la línea ecuatorial (islas Galápagos) (Goodall y col., 1951).

Los pingüinos han evolucionado de tal manera que se han adaptado perfectamente a la vida acuática, han perdido la

capacidad de volar, sus extremidades anteriores al mismo tiempo han adquirido la forma de aletas planas y estrechas que le permiten propulsarse en el medio acuático con gran habilidad y velocidad, alcanzando así los 40 kilómetros por hora y dar saltos fuera del agua de hasta 2 metros: estas aletas en tierra, les ayudan también a mantener el equilibrio al caminar. Otras diferencias al comparar los pingüinos con las aves voladoras, es que los primeros presentan un esqueleto alargado con forma fusiforme, huesos firmes y sólidos. El cuerpo lo tienen cubierto con plumas cortas, compactas y satinadas. Las extremidades posteriores son fuertes y cortas, las utilizan como timón cuando nadan y en tierra les sirven para movilizarse en posición erguida o para impulsarse cuando se deslizan sobre el vientre en la nieve o hielo (Sallaberry, 1982).

De las 17 especies que existen en el mundo, 9 habitan en Chile, desde el continente Antártico hasta el extremo norte de nuestro país (Sallaberry, 1982); estas especies son:

- Pingüino Rey (***Aptenodytes patagonica***)
- Pingüino Emperador (***Aptenodytes fosten***)
- Pingüino Papúa (***Pygoscelis papua***)
- Pingüino de Adelia (***Pygoscelis adeliae***)
- Pingüino de Barbijo (***Pygoscelis antarctica***)
- Pingüino de Penacho Amarillo (***Eudyptes crestatus***)
- Pingüino Macaroni (***Eudyptes chrysolophus***)
- Pingüino de Magallanes (***Spheniscus magellanicus***)

- Pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*)

Los pingüinos son aves muy sociables, tanto en el mar como en sus colonias de nidificación, en las que se ha llegado a estimar poblaciones de hasta 50000 individuos (Goodall y col., 1951).

Los lugares reproductivos son las islas cercanas al continente, donde cavan pequeñas cuevas en el suelo blando y la hembra deposita los huevos para la incubación. Otros aprovechan las grandes oquedades de los acantilados que caen directamente al mar. En estos lugares los pingüinos usan cualquier irregularidad del suelo para depositar sus huevos y en algunos casos construyen rudimentarios nidos con piedras y guano. Generalmente el número de huevos es de 2, en algunas especies llegan a 3 y excepcionalmente 4 (Sallaberry, 1982). Los grandes pingüinos Rey y Emperador, ponen sólo un huevo (Goodall y col., 1951).

Los huevos son grandes casi redondos de cáscara gruesa, áspera y de color blanco verdoso. La incubación la hacen por turnos el macho y la hembra y dura entre 35 y 65 días según la especie. El polluelo nace completamente indefenso, cubierto de un plumón de color gris. Estos son alimentados por los padres durante 2 meses, hasta que son capaces de ir por sí solos al mar. Al alcanzar un estado de desarrollo más avanzado, el cuidado de los polluelos queda a cargo de unos pocos adultos formándose lo que se denomina "guarderías infantiles" (Sallaberry, 1982).

A través de estudios realizados por Scolaro (1987, 1989 y 1990) en una colonia natural de pingüinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*), se determinó la edad reproductiva la cual es alcanzada en las hembras a los cuatro años y a los cinco en los machos. La longevidad máxima de esta especie se estimó entre los 25 y 30 años. La causa principal de pérdidas de huevos y pichones fue la deserción de los padres, provocando la predación por gaviotas y la inanición de los pichones. La mayor probabilidad de muerte sería durante la formación de las guarderías y durante la muda del plumón.

En cautividad, un estudio realizado en el pingüino Papua (*Pygoscelis papua*) en el zoológico de Edimburgo, reveló que alrededor del 50 % de las muertes fueron por causa de aspergilosis, afectando principalmente a los pichones entre los dos a tres meses de edad. (Flach y col., 1990).

Es importante conocer algunas características particulares del pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*), en el cual se centra este estudio. Esta especie recibe también el nombre de Pájaro-niño y Patranca (nombre dado por los araucanos), (Goodall y col., 1951). Como su nombre lo indica, es endémico de la corriente de Humboldt, la cual baña gran parte del litoral chileno desde Chiloé hacia el norte, con sus aguas templadas que permiten la vida a los pingüinos en regiones donde las temperaturas pueden exceder los 38°C. Es así, como es posible encontrar áreas de nidificación que

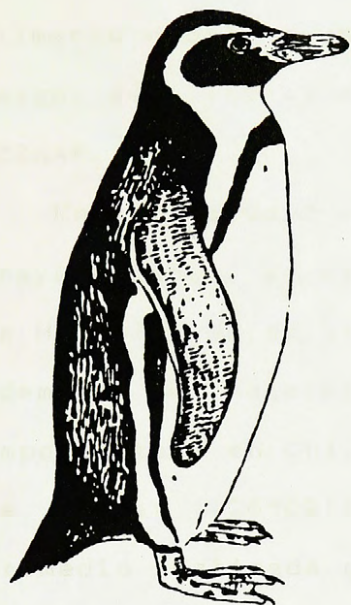
se extienden por el norte desde los 6°30'S en Perú (isla Lobos de Tierra), hasta los 34° 00'S por el sur en la isla Pupuya de Chile. También es posible observar algunos pingüinos que no se encuentran reproductivamente activos, desplazarse varios kilómetros más al sur, en las cercanías de Corral (39°52'S), (Araya, 1983).

Esta especie se describe con una longitud promedio de 70 cm. En cuanto al color, por encima es gris apizarrado, con la garganta y lados de la cabeza negruzcos. Mentón blanco con una banda blanca delgada que parte del pico, da vuelta por encima del ojo y parte lateral de la cabeza para juntarse en la parte anterior del cuello con el lado opuesto. La parte inferior es blanca, con una gran banda negruzca, que a modo de herradura cruza el pecho y se continúa por los lados hasta la cola. La cola es muy corta y el pico es grueso.

Es importante diferenciar a esta especie con el pingüino de Magallanes, debido a la gran similitud entre ellas y por convivir en ciertas áreas de nidificación desde la isla de Cachagua (32°35'S) hacia el sur. La diferencia más notable entre ambas especies, es la presencia de una banda adicional negra en la parte anterior del cuello entre el negro de la garganta y la herradura negra del pecho. (Goodall y col., 1951), (FIGURA 1).

La alimentación de los pingüinos consiste principalmente en peces que forman cardúmenes y cuyos desplazamientos estarían condicionando sus áreas de alimentación. La dieta

FIGURA 1



Pingüino de Humboldt
(*Spheniscus humboldti*)



Pingüino de Magallanes
(*Spheniscus magellanicus*)

Dibujos de J. Goodall (Goodall y col., 1951)

está constituida principalmente de anchovetas (*Engraulis ringens*), peces de origen pelágico y sardinas (*Cuplea (Strangoniera) bentincki*) de origen pelágico costero, asociadas a la corriente de Humboldt. Durante los meses de junio a agosto también se ha detectado en su dieta representantes de la familia Scomberesocidae. (CONAF, 1988).

El pingüino de Humboldt experimenta la máxima concentración de individuos entre los meses de junio a septiembre, siendo el punto máximo en el mes de agosto. Durante este tiempo también se observa la máxima actividad

fisiológica, coincidiendo con una alta disponibilidad de alimento debido a una mayor frecuencia de desplazamiento a lo largo del litoral de peces pelágicos y pelágicos costeros. (CONAF, 1988).

En un estudio realizado entre los años 1981 y 1982 por Araya (1983), se estimó que la población total de pingüinos de Humboldt es de 14500 a 18000 individuos. En dicho estudio, además se determinó las colonias de nidificación más importantes en Chile. La principal de éstas, es la isla Pan de Azúcar ($26^{\circ}09'S$) en la III región, con una población promedio estimada de 6000 pingüinos; le siguen en orden de importancia la isla de Chañaral, III región ($29^{\circ}01'S$) y la isla de Cachagua, V región ($32^{\circ}35'S$), ambas con cifras cercanas a los 2000 y 1500 ejemplares respectivamente. En febrero de 1990, en un censo realizado por CONAF en la isla de Cachagua, se estableció la presencia de alrededor de 2000 individuos. (Benoit y Glade, 1990).

A través de los censos realizados desde hace varios años a la fecha, se ha podido observar que existe una gran fluctuación de la población de esta especie, con una clara tendencia a la disminución de su número. Muchos factores tratan de explicar dicho fenómeno, entre estos, se habla de acciones antrópicas que interfieren la reproducción en las colonias, la destrucción del hábitat, la sobrepesca del área y el efecto de la corriente El Niño que es sabido que afecta negativamente las poblaciones de aves marinas de la costa

Norte y Central de Chile (CONAF, 1988).

Cabe mencionar algunas características de la isla de Cachagua, de cuyo lugar proceden los pingüinos que se utilizaron en este estudio.

Debido a que esta isla posee una excelente representatividad de las aves de los ambientes marinos costeros de la zona central, además de la presencia de la tercera colonia reproductiva más importante del pingüino de Humboldt en el país, se creó el Monumento Natural "Isla Cachagua", el 27 de Junio de 1989, informado por CONAF en su oficio N° 556 de 1989. La isla de Cachagua (32°35'S), se encuentra en la comuna de Zapallar, Provincia Petorca, V Región; ubicada en la ensenada de Cachagua, a unos 200 m al sur de la Punta Peumo, frente al balneario de Cachagua. Con una superficie aproximada de 4,5 há., tiene cerca de 400 m de largo por 150 m de ancho, con una meseta a 30 m.s.n.m.

La vegetación es muy limitada en variedad de especies y éstas están pobremente representadas. Las poblaciones más conspicuas son las de cactáceas con dos especies que se entremezclan, Equinopsis litoralis en las laderas y Neoporteria sibquibosa sobre las rocas o en grietas entre ellas. En los sectores más bajos es posible encontrar Nolana crassulifolia y palo de yegua (Fuchsia lycioides) y entre ellas ejemplares de Bahia ambrosioides. En sectores de laderas se encuentran algunos ejemplares de Baccharis sp., junto a dos especies del género Solanum: S. maglia y

S. maritimum. Por último es importante destacar la presencia de gramíneas no identificadas y de algunos líquenes saxícolas. Existen además algunas especies introducidas, entre las que se cuentan tres ejemplares de Cipres macrocarpa secos desde hace varios años por efecto del anidamiento y defecaciones de los yecos (Phalacrocorax olivaceus) y algunos ejemplares aislados de Pitosporus sp. provenientes posiblemente de la costa cercana.

Respecto de la fauna, está representada por el Chungungo o nutria de mar (Lutra felina); las aves que se encuentran son el pingüino de Humboldt (Spheniscus humboldti), pelicano (Pelecanus occidentalis), piquero (Sula variegata), yeco o cormorán (Phalacrocorax olivaceus), gaviota dominicana (Larus dominicanus), tiuque (Milvago chimango), remolinera costera (Cinclodes nigrofumosus), jote de cabeza negra (Coragyps atratus), chorlo de las rompientes (Aphriza virgata), chorlo vuelvepiedras (Arenaria interpres) y pingüino de Magallanes (Spheniscus magellanicus) (Benoit y Glade, 1990).

II CARACTERISTICAS HEMATOLOGICAS Y DE QUIMICA SANGUINEA DEL PINGUINO

En medicina humana, la hematología es considerada una herramienta importante en la realización de diagnósticos más rápidos y certeros; esta característica también se está extendiendo hacia la medicina aviar. A pesar de ello, existe escasa información en muchas especies de aves, en cuanto a valores sanguíneos de referencia, respuesta de la sangre frente a determinadas enfermedades, etc; limitando de esta manera la interpretación clínica de los resultados y dificultando el diagnóstico y tratamiento oportuno (Stoskopf y col., 1983; Hawkey y col., 1985). Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento en los estudios de los constituyentes celulares y químicos sanguíneos de las aves en general. Este mayor interés también se ha venido manifestando en las aves silvestres, las que revisten una gran importancia en la mantención del equilibrio del ecosistema en los cuales ellas habitan.

Los pingüinos como el resto de las aves, presentan ciertas características sanguíneas distintas a los mamíferos. Las más importantes descritas por Hodge (1977), son:

- Presentan eritrocitos nucleados; estas células son generalmente elípticas y bastante grandes. El núcleo es condensado y en el centro de la célula la concentración de hemoglobina (Hb) es menor que en mamíferos (probablemente por

el espacio ocupado por el núcleo).

- Las células asociadas a la coagulación no son las plaquetas, sino los trombocitos nucleados muy parecidos en apariencia a los eritrocitos.

- Los granulocitos polimorfonucleares más comunes en las aves son los heterófilos, equivalentes a los neutrófilos en los mamíferos. En las aves los gránulos citoplasmáticos se tiñen con colorantes ácidos.

- Las vías por las cuales se desencadena la coagulación sanguínea difieren considerablemente a la de los mamíferos, siendo específicamente en el sistema intrínseco donde carecen del factor XI y XII.

Las aves que habitan en regiones polares como los pingüinos, se ven enfrentados a mantener una alta y relativamente constante temperatura corporal. Para evitar la pérdida de calor retienen una capa de aire entre la piel y las pequeñas plumas duras, que al unirse forman una cubierta impermeable que actúa como aislante. A esto también contribuyen las gruesas capas de tejido adiposo que poseen bajo la piel (Sallaberry, 1982). Sin embargo, existen algunas áreas del cuerpo descubiertas como es el caso de las extremidades que reciben directamente el frío polar. Para evitar el congelamiento, estas aves han evolucionado de tal forma que se les describe una doble circulación sanguínea. Una en el grueso del cuerpo, que fluctúa alrededor de 38°C y otra próxima a la temperatura ambiental en la zona

descubierta. En la mantención de dicho sistema, los pingüinos han desarrollado un eficiente control vasomotor que les permite regular el flujo sanguíneo periférico. Además de esta variación en el flujo sanguíneo, se describe un cambio en la viscosidad de la sangre que es inversamente proporcional a la temperatura ambiental. De esta forma, estas aves pueden disminuir la perfusión sanguínea de sus extremidades (conformadas por hueso y tejido conectivo, con muy bajo consumo de oxígeno), evitando la pérdida de calor en ambientes muy fríos (Guard y Murrish, 1975).

Las aves que habitan en regiones polares, presentan una baja concentración de proteínas plasmáticas, encontrándose valores que fluctúan entre los 3.65 a 5.97 g/100 ml de plasma, al ser comparadas con las concentraciones dadas para mamíferos que habitan en las mismas regiones con valores de 8.39 a 9.89 g/100 ml de plasma (Guard y Murrish, 1975).

Al comparar el recuento diferencial de leucocitos entre los pingüinos y el resto de las aves, se observa según algunos autores que en los primeros, los heterófilos son las células más numerosas en la circulación periférica normal, en contraste con las demás aves, donde los leucocitos observados con mayor frecuencia son los linfocitos (Maxwell, 1978a, 1978b; Stoskopf y col., 1983), citado por Zinmeister y col. (1987).

Los pingüinos en general presentan un recuento de eritrocitos muy bajo y un tamaño celular muy grande (Volumen

Corpuscular Medio), dando como resultado un VGA o hematocrito y contenido de Hb semejantes a los que se encuentran en los mamíferos (Nicol y col, 1988).

En los pingüinos, la muestra de sangre, puede ser obtenida desde la vena yugular, corazón y vena braquial, siendo esta última la vía de preferencia, debido a que disminuye considerablemente el estado de estrés del animal en comparación con los otros dos sitios de punción (Samour y col., 1983).

Es importante destacar, que pese a la escasa literatura disponible en torno a los pingüinos, y al bajo número de individuos que consideró cada estudio, se han observado variaciones en los constituyentes celulares y químicos de la sangre, dependiendo de una serie de factores, tanto fisiológicos como patológicos.

Se observan algunas características hematológicas propias para cada "ESPECIE", siendo este factor, una variable importante de considerar al estudiar una especie de pingüino determinada, en especial, si este no cuenta con valores preliminares de referencia.

Hawkey y col. (1989), describen diferencias hematológicas significativas al estudiar 3 especies de pingüinos. De esta manera, en el pingüino adulto de Magallanes, se encontró menor contenido de Hb, VGA y recuento de eritrocitos que en los pingüinos Papúa y pingüino de Penacho Amarillo adultos; este último a su vez, presentó un número relativo de

heterófilos significativamente mayor a los de las otras dos especies.

Valores hematológicos entregados por Nicol y col. (1988), para la especie Eudyptula minor, muestran un VGA y concentración de Hb, ligeramente más bajos comparados con los valores entregados para otras especies de pingüinos.

Se observa que el factor "ESPECIE", afecta la distribución porcentual de los granulocitos como lo demuestra Zinsmeister (1987), al comparar los resultados obtenidos en el pingüino Adelia, Papúa y pingüino de Barbijo. También se observa esta diferencia entre las especies de Magallanes, Papúa y pingüino de Penacho Amarillo, según los estudios que realizó Hawkey y col., (1989).

En una investigación realizada en los pingüinos de Barbijo, Adelia y Papúa por Guard y Murrish (1975), se aprecian diferencias en las concentraciones de proteína plasmática total, albúmina y hematocrito, entre las especies estudiadas. Nicol y col. (1988) describen para la especie Eudyptula minor una concentración de proteína plasmática total bastante más baja que la descrita por Block y Murrish (1974), citados por los autores precedentes, en tres especies de pingüinos antárticos.

La "EDAD", como lo describe Hawkey y col. (1989), es otro factor que modifica los valores hematológicos. En este estudio, pingüinos adultos de Penacho Amarillo y Papúa, presentaron una concentración de Hb, VGA y recuento de

eritrocitos significativamente mayores que los encontrados en los juveniles de la misma especie.

Uno de los factores fisiológicos que tiene mayor efecto sobre los valores hematológicos es la "PELECHA". En el pingüino adulto, este proceso se repite anualmente y dura entre dos a cinco semanas dependiendo de la especie (período en el cual ocurre el recambio total del plumaje), (Stonehouse, 1967; citado por Williams y col., 1977). Para el pingüino de Humboldt, se describe una pelecha con una duración de 6 semanas que se produce a fines de Diciembre o principios de Enero (Goodall y col., 1951). Durante este período las aves permanecen en tierra, sin moverse y alimentarse.

Al menos en unas cinco especies de pingüinos se ha observado una pérdida de peso durante la pelecha, equivalente al 37 a 45% del peso corporal (Richdale, 1957; citado por Williams y col., 1977). Por ello que es de gran importancia el período previo a la pelecha, durante el cual las aves experimentan un aumento considerable del consumo de alimentos, incrementando las reservas grasas y desarrollando una excelente condición de la masa muscular, para aportar la energía y proteínas necesarias en la formación del nuevo plumaje y mantención de la temperatura corporal. Además las proteínas musculares son usadas posteriormente como fuente de glucosa sanguínea (gluconeogénesis) para la mantención del sistema nervioso central (Williams y col., 1977).

Hawkey y col.(1989), encontraron en el pingüino de Penacho Amarillo al final del período de pelecha (post-pelecha), valores significativamente menores de Hb, VGA, recuento de eritrocitos, concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y heterófilos, y mayores de volumen corpuscular media (VCM) y linfocitos, comparados con los valores obtenidos antes de que ingresaran a dicho período (pre-pelecha). El pingüino de Magallanes presentó esta misma tendencia, siendo estadísticamente significativo sólo para la Hb y CHCM.

En un estudio realizado por Ghebremeskel y col. (1989), se analizó el efecto de la pelecha sobre algunos valores de la química sanguínea en el pingüino de Magallanes. Post-pelecha, se observaron concentraciones significativamente menores de proteína plasmática total, albúmina, creatinina, bilirrubina conjugada, fosfato inorgánico, hierro y potasio, y mayores de cloro, sodio y fosfatasa alcalina comparadas con las encontradas durante la pre-pelecha. Los niveles de urea plasmática, globulina, bilirrubina total, bicarbonato y calcio, no presentaron diferencias significativas entre la pre y post-pelecha.

El estado de "CAUTIVIDAD", también afecta los constituyentes sanguíneos, es así como los pingüinos de Penacho Amarillo y Papúa silvestres, presentaron un número relativo de heterófilos más bajo, y un número relativo de linfocitos, monocitos y eosinófilos mayores al ser comparados

con aves en cautividad (Hawkey y col., 1989).

Dentro de los factores patológicos que alteran los valores sanguíneos, Hawkey y col. (1985), observaron que aves afectadas por "bumblefoot" (inflamación crónica de la superficie plantar del pie), mostraron un recuento absoluto de heterófilos y niveles de fibrinógeno significativamente mayores que los encontrados en aves clínicamente sanas. La heterofilia no siempre se reflejó en un aumento del recuento total de células blancas o como mayor relación de heterófilos/linfocitos, tampoco se observaron heterófilos morfológicamente alterados.

En pingüinos de Magallanes afectados por malaria aviar (*Plasmodium sp.*), se observó un incremento en el recuento total de leucocitos con una marcada linfocitosis. Esta característica es similar a lo observado en pingüinos africanos afectados por la misma enfermedad, según lo describe Stoskopf y Beier (1979); citado por el autor de este estudio Fix y col. (1988).

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- 1.- Determinar valores preliminares de referencia de algunos constituyentes sanguíneos en el pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*).
- 2.- Determinar si existen diferencias hematológicas significativas durante la adaptación de un grupo de aves silvestres capturadas y trasladadas a un medio artificial.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1.- Realizar un estudio cuantitativo y morfológico de los elementos figurados de la sangre, eritrocitos, leucocitos y trombocitos.
- 2.- Determinar algunos constituyentes de química sanguínea como proteínas plasmáticas, nitrógeno ureico sanguíneo (NUS), aspartato amino transferasa (AST), glucosa y ácido úrico.

* Resolución 22600-81/1981, publicada en el Boletín de la Organización de la OEA, No. 10, p. 10.

* Dr. Víctor Rivera, Ed. del. del Pingüino de Humboldt, Museo Nacional de Historia Natural, Lima, Perú.

Comunicación personal, 1980.

MATERIAL Y METODO

ANIMALES

Se trabajó con 16 pingüinos de Humboldt, de los cuales 15 fueron capturados, teniendo la autorización previa de la Corporación Nacional Forestal (CONAF) y el Servicio Nacional de Pesca (SERNAP)*, que son las instituciones encargadas de la preservación del medio ambiente, la captura y el transporte de estas aves. Dicha captura se llevó a cabo el día 5 de abril de 1991, desde el Monumento Nacional Isla de Cachagua, V Región.

Tomando todas las precauciones para causar el mínimo impacto en la zona de nidificación, se seleccionaron pingüinos adultos, machos y hembras, de tamaños similares y aparentemente sanos. Una vez capturados, se trasladaron en cajas de transporte para animales vivos, a la playa Las Cujas, en cuyo lugar se les inyectó una asociación de antibióticos (Gentamicina-Ampicilina) por vía intramuscular, de acuerdo al manejo indicado para todo animal que es trasladado al Zoológico, como medida para disminuir durante el transporte una posible alza bacteriana producto del estrés**. Esa misma tarde, recién llegadas las aves a

* Resolución SERNAP N°199;Valparaíso,12 FEB 1991.Resolución CONAF N°453-90;Viña del Mar,5 NOV 1990.

**Dr. Victor Riveros, Med. Vet., Zoológico del Parque Metropolitano "San Cristobal".

es Comunicación personal 1990.

Santiago, se ubicaron en un recinto definitivo en el Zoológico del Parque Metropolitano San Cristobal, junto con 5 pingüinos de Humboldt juveniles y un adulto de la misma especie, ya en cautiverio. Este último también se utilizó en este estudio, completando así el número final de 16 pingüinos. Es importante señalar que dicho pingüino por el hecho de llevar más de un año viviendo en cautividad, se le tomaron sólo 2 muestras de sangre durante el primer y segundo muestreo junto a los 15 pingüinos de Humboldt capturados, pero, los valores obtenidos en las dos oportunidades se consideraron en la tabla de resultados y análisis estadístico dentro del último muestreo a los 3 meses post captura. El calendario de los muestreos es detallado más adelante.

MANTENCION DE LAS AVES

Los pingüinos fueron ubicados en un recinto que cuenta con un área de tierra de 14 x 7 metros, de escasa pendiente. En este terreno se construyeron 3 cuevas de 60 cm de ancho x 80 cm de largo, semejando a aquellas que es posible observar en los lugares naturales de nidificación de estas aves; además, colindante a dicho terreno existe una piscina de aproximadamente 6 x 2,5 metros y de 1 metro de profundidad. Esta, se llenó con agua potable sin ningún tratamiento especial, la que se cambió 2 veces por semana. El lugar fue

aseado diariamente y 2 veces al mes se realizó un lavado con cloro de la piscina para evitar el desarrollo de hongos.

La alimentación constó de pescado fresco, principalmente merluza y en menor proporción sardina; se calculó aproximadamente 1 a 1,5 kilos de pescado por ave y ellas fueron alimentadas diariamente.

OBTENCION DE LAS MUESTRAS

El día 8 de Abril, es decir, 3 días después de llegadas estas aves al Zoológico, se procedió a tomar la primera muestra de sangre. A partir de esta fecha se estableció el calendario definitivo para la obtención de las sucesivas muestras, que fue el siguiente:

Primer muestreo: 3 días post captura.

Segundo muestreo: 3 semanas post captura.

Tercer muestreo: 7 semanas post captura.

Cuarto muestreo: 15 semanas post captura.

Previa obtención de las muestras, fue necesario individualizar a cada una de las aves; el sistema que se utilizó consistió en un número bordado (1 al 16), que se les amarró cuidadosamente a la aleta derecha. Se optó por este sistema, luego de descartar la posibilidad de el empleo de anillos, por no acomodarse éstos a la forma anatómica de las patas en estas aves. También se realizó un examen clínico químico sanguíneo general en cada una de las aves para descartar cualquier

cuadro patológico o traumatismo provocado por la captura y o transporte. Posteriormente, se procedió a pesarlas utilizando una balanza marca NETA (25 Kilos por 100 gramos), esta medida se repitió durante los cuatro muestreos. Además del pesaje, sólo en el primer muestreo se procedió a tomar algunas medidas de longitud, que fueron las siguientes:

- Largo total
- Largo ala
- Largo tarso
- Largo pico

Las muestras de sangre fueron tomadas de la vena braquial, la cual corre paralelo al tercio distal del húmero. Para ello se utilizaron jeringas desechables de 3 y 5 ml con agujas de 23g x 58, de 16 mm de largo por 0.6 mm de diámetro (Samour y col., 1983).

Las aves se colocaron en posición dorsoventral, previa inmovilización del pico con tela adhesiva y cubriéndoles la cabeza con un paño para mayor tranquilidad del animal y seguridad del operador. Se procedió a desinfectar la zona de la punción y luego se ejerció una pequeña presión en la axila del animal para resaltar la vena braquial de modo de facilitar su ubicación (Foto 1).

De cada pingüino se tomaron (2) muestras de sangre de aproximadamente (1) a (2) ml, una de cada aleta. Una de estas muestras fue obtenida utilizando una jeringa heparinizada, para el análisis posterior de algunos constituyentes de química sanguínea. La segunda muestra se tomó utilizando una



FOTO 1. Extracción de sangre desde la vena braquial
en el pingüino de Humboldt (*Spheniscus humboldti*)

jeringa humedecida previamente con EDTA y luego la sangre fue trasvasijada a un tubo con EDTA como anticoagulante (1-2 mg/ml de sangre), para la determinación del hemograma.

Las muestras para el hemograma fueron procesadas el mismo día de obtenidas. Las muestras con heparina, para la determinación de la química sanguínea fueron centrifugadas a las pocas horas para la obtención del plasma, el que se refrigeró para su análisis al día siguiente, a excepción de la glucosa sanguínea que se determinó el mismo día. Todos los análisis se realizaron en el laboratorio de Patología

Clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

DETERMINACION DE LOS CONSTITUYENTES SANGUINEOS

A.-HEMOGRAMA.

Las siguientes determinaciones se realizaron por las técnicas corrientes descritas para mamíferos y aves (Schalm y col., 1975):

- **Volumen Globular Aglomerado (VGA)** (Método del microhematocrito).

- **Hemoglobina (Hb)** (Método de Drabkin o cianometahemoglobina).

- **Indices hematimétricos de Wintrobe** : Volumen Corpuscular Medio (VCM); Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM).

- **Recuento de eritrocitos y leucocitos:**

Se realizó por el método del hemocitómetro utilizando el diluyente Natt-Herrick, que permite la diferenciación de los eritrocitos nucleados del resto de las células, contándose eritrocitos y leucocitos en el mismo campo del hemocitómetro (Natt y Herrick, 1952; Stoskopf y col., 1983).

- **Número de eritrocitos/ul:**

Se obtuvo multiplicando las células contadas en 5 pequeños cuadrados del área central del hemocitómetro (1mm^2) por 10000 (1:200 dilución, 0.1 mm de profundidad de la

cámara x 5 ($1/5$ del mm^2) (Rudolph y col., 1985).

b) Número de leucocitos/ul:

- Debido a que la diferenciación entre leucocitos y trombocitos en la cámara no es fácil, estas células se contaron en conjunto. El número total de células obtenidas en 9 mm^2 del hemocitómetro se multiplicó por 222 (1:200 dilución; 0.1 mm , profundidad de la cámara dividido por 9) para obtener el número /ul (Stoskopf y col., 1983).

- Para obtener el número de leucocitos/ul propiamente tal, se contó en el frotis sanguíneo la cantidad de trombocitos observados por cada 100 leucocitos y ambas cuentas se consideraron como el 100% de células contadas. Para obtener el porcentaje de leucocitos del total de células, se aplicó una regla de tres (Rudolph y col., 1985). Finalmente, conociendo el porcentaje de leucocitos, esta cifra se multiplicó por la cantidad obtenida en el paso anterior, dando como resultado el valor absoluto de leucocitos/ul. La diferencia que resulta de esta operación equivale al número de trombocitos/ul (Recuento indirecto).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Cuenta diferencial de leucocitos:

Fue realizada en extensiones sanguíneas en cubre objetos, fijados con Metanol y teñidas con Giemsa. Se contabilizaron 200 células en cada uno de los dos frotis que se realizó para cada pingüino (Zinsmeister y VanDerHeyden, 1987).

Para establecer posibles diferencias significativas entre ellos, se utilizó un análisis de Chi-cuadrado y una prueba de

B.- QUIMICA SANGUINEA:

Los constituyentes químicos sanguíneos se determinaron con las técnicas tradicionales que se indican, y en algunos casos utilizando reactivos comerciales (Schalm y col., 1975; Rudolph y col., 1985).

- **Proteína Total** (Método de Refractómetro y Biuret)
- **Albúmina** (Método del Verde Bromocresol)
- **Fibrinógeno** (Método del calentamiento a 56°C)
- **Aspartato Amino Transferasa (AST)** (Método UV, Merck-test ASAT)
- **Nitrógeno Ureico Sanguíneo (NUS)**
(Método Colorimétrico Merck-test, Reacción de Berthelot)
- **Glucosa** (Método Colorimétrico Merck-test Glucosa)
- **Acido Úrico** (Método Colorimétrico Enzimático, Merck-test)

ANALISIS ESTADISTICO

Los valores hematológicos y de química sanguínea de pingüinos de Humboldt obtenidos en los sucesivos muestreos post captura, fueron descritos estadísticamente, obteniéndose la media, desviación estándar y el coeficiente de variación. Para establecer posibles diferencias significativas entre ellos, se utilizó un análisis de varianza y una prueba de

comparaciones múltiples (Prueba de Tukey). Los valores hematológicos expresados en porcentajes fueron transformados al arcoseno según la fórmula de Bliss, citado por Snedecor y Cochran, (1967).

Los pingüinos... adaptación al... semana y posterior... teralino del estudio.

Durante las dos... aceptaban el alimento... así intactos las... se comportaban... período, luego de... dos pingüinos (2) y... la inaniación, ya... paso en ellos... macroscópica en la... veterinario, encargado del... muestreo, alrededor... tercer pingüino (3);... debido a que tampoco se... la necropsia realizada en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

El resto de los pingüinos... presentar problemas... capturados.

RESULTADOS

I COMPORTAMIENTO DE LAS AVES

Los pingüinos fueron observados en su comportamiento y adaptación al cautiverio, diariamente durante la primera semana y posteriormente 2 a 3 veces por semana, hasta el término del estudio.

Durante las dos primeras semanas, los pingüinos no aceptaban el alimento que se les ofrecía, el cual permanecía casi intacto en las cajas donde se les administraba. Además se comportaban muy intranquilos y agresivos. En dicho período, luego de tomada la primera muestra de sangre, dos pingüinos (9 y 13) murieron, probablemente a causa de la inanición, ya que se observó una marcada disminución del peso en ellos, sin observarse ninguna otra alteración macroscópica en la necropsia realizada por el médico veterinario encargado del Zoológico. Posterior al segundo muestreo, alrededor de las tres semanas y media, murió un tercer pingüino (3), posiblemente a raíz de la misma causa, debido a que tampoco se observaron lesiones macroscópicas a la necropsia realizada en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

El resto de los pingüinos comenzaron a comer sin presentar problemas, alrededor de las dos semanas de capturados.

Transcurrido un mes de la captura, las aves presentaban un comportamiento relativamente tranquilo, observándose mejor adaptadas al lugar, horario de comida y al guardia encargado de ellas. A los tres meses fue posible detectar la formación de algunas parejas, mostrando las aves un comportamiento totalmente adaptado al manejo en cautividad.

algunas parejas,

II MEDIDAS DE LONGITUD Y PESO

comparar la con

Durante el primer muestreo, después de tres días de la captura, a todas las aves de este estudio se les tomó algunas medidas de longitud. Los valores obtenidos se entregan en el cuadro 1.

valor de

CUADRO 1: MEDIDAS DE LONGITUD DE PINGUINOS DE HUMBOLDT ADULTOS.

N	Largo Total (cms)			Largo Tarsos (cms)			Largo Pico (cms)			Largo Ala (cms)		
	X	±	S	X	±	S	X	±	S	X	±	S
16	63,4	±		13,5	±		5,9	±		20,4	±	
	2,04			0,72			0,5			0,75		

Con respecto al peso de las aves, estas fueron controladas en 4 oportunidades desde el momento de la captura hasta el término de este estudio, período que se extendió por 3 meses. Al comparar los valores (cuadro 2), se observó a las

3 semanas posterior a la captura, una disminución del peso promedio inicial de los animales, el cual no fue estadísticamente significativo. Entre la tercera y séptima semana, se apreció un incremento del peso, que fue significativo ; esta misma tendencia continúa a las 15 semanas, siendo este último resultado estadísticamente significativo, no sólo al compararlo con el segundo muestreo que registró los valores más bajos, sino que además, al compararlo con los pesos iniciales obtenidos a los 3 días después de la captura.

CUADRO 2: CONTROL DEL PESO EN PINGUINOS DE HUMBOLDT ADULTOS EN CAUTIVIDAD.

VARIABLE	3 Días Post-capt.			3 Semanas Post-capt.			7 Semanas Post-capt.			15 Semanas Post-capt.		
	N	X ± S		N	X ± S		N	X ± S		N	X ± S	
PESO (gr)	15	4.313,3 ± 385,6	bc	12	3.841 ± 409,2	c	12	4.691,6 ± 631,7	ab	13	4.853,8 ± 689,9	a

letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (p<0.05)

III VALORES HEMATOLOGICOS

En el cuadro 3, se presenta la descripción estadística para cada uno de los constituyentes de la serie eritrocitaria y de los trombocitos en los distintos análisis post captura (valores individuales en anexo 1).

Los pingüinos a los tres días post captura, presentaron en promedio un número de eritrocitos de $1,93 \pm 0,31 \times 10^6$ /ul, un VGA de $41,4 \pm 7,15$ % y una concentración de hemoglobina de $14,4 \pm 2,01$ gr/dl. Dichos valores no presentaron variaciones estadísticamente significativas durante el estudio. En relación a los índices hematimétricos de Wintrobe, se observó una variación significativa del VCM (fl), presentando el valor promedio más bajo de 207,4 fl a las 3 semanas post captura y el valor promedio más alto de 238,1 fl a las 15 semanas. La CHCM no presentó variaciones significativas post captura, respecto al valor inicial de $34,9 \pm 3,63$ gr/dl.

En el mismo cuadro se presenta el número de trombocitos/ul, que fue inicialmente de $20734,5 \pm 5232$ células. Entre la tercera y séptima semana, se observó una disminución significativa del número, el cual volvió a los valores iniciales al término del estudio.

En general, se observó una baja variabilidad individual en los valores de la serie eritrocitaria, demostrado por los coeficientes de variación obtenidos; esta característica no se observó para los trombocitos (cuadro 3 y anexo 1).

CUADRO 3: VALORES ERITROCITARIOS Y DE TROMBOCITOS DE PINGUINOS DE HUMBOLDT ADULTOS OBTENIDOS EN CAUTIVIDAD.

CONSTITUYENTE SANGUINEO	3 Dias Post-captura			3 Semanas Post-captura			7 Semanas Post-captura			15 Semanas Post-captura		
	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%
Eritrocitos x 10 ⁹ /ul	15	1,93 ± 0,31 a	15,9	13	2,08 ± 0,35 a	16,8	11	1,97 ± 0,25 a	12,7	14	1,81 ± 0,22 a	12,2
V.G.A. %	15	41,4 ± 7,15 a	17,2	13	42,6 ± 5,05 a	11,9	11	45,7 ± 4,02 a	8,8	14	42,8 ± 4,05 a	9,4
Hemoglobina g/dl	15	14,4 ± 2,01 a	14,0	13	15,0 ± 2,09 a	11,9	11	15,5 ± 1,21 a	7,8	14	15,0 ± 1,60 a	10,7
V.C.M. fl	15	214,5 ± 27,54 ab	12,8	13	207,4 ± 25,58 b	12,3	11	232,5 ± 25,70 ab	11,1	14	238,1 ± 20,64 a	8,6
C.H.C.M. g/dl	15	34,9 ± 3,63 a	10,4	13	34,9 ± 2,13 a	6,1	11	34,2 ± 2,92 a	8,5	14	34,8 ± 1,56 a	4,5
Trombocitos ul	13	20734,5 ± 5232,99 ab	25,2	11	23646,9 ± 7739,28 a	32,7	10	15599,9 ± 2880,69 b	18,5	13	18290,9 ± 4658,99 ab	25,5

letras distintas indican diferencias estadísticas significativas, (p<0,05)

En el cuadro 4 y 5, se presenta la cuenta total y diferencial de leucocitos (los valores individuales se entregan en el anexo 2).

Se pudo apreciar que la célula predominante en el pingüino de Humboldt, en este estudio, fue el heterófilo, estimándose una cifra promedio de 72,7 % al tercer día post captura. Los linfocitos se estimaron en un 20,2 % siendo la segunda célula en importancia numérica. Monocitos y eosinófilos, presentaron valores inferiores al 5 % y los basófilos se presentaron esporádicamente (cuadro 4).

Los valores porcentuales de los distintos leucocitos, no experimentaron grandes variaciones en el periodo posterior a la captura, a excepción de los heterófilos que presentaron diferencias significativas entre la séptima y décimo quinta semana y los eosinófilos aumentaron significativamente al comparar el valor final (décimo quinta semana), con el valor inicial.

En el cuadro 5 se muestra el número total de leucocitos/ul de sangre de $11.660,4 \pm 5.632,3$ a los tres días post captura, cifra que experimentó variaciones durante la adaptación al cautiverio. Es así como, entre el tercer día y la tercera semana, se observó una tendencia no significativa a un aumento, para posteriormente a la séptima semana experimentar una disminución significativa del número, volviendo luego al valor inicial.

El número absoluto de heterófilos, con un valor promedio

inicial de 8.510 ± 4.199 células/ul de sangre, presentó una tendencia no significativa a un aumento a la tercera semana post captura, presentando luego, una disminución significativa a la séptima semana. A la décimo quinta semana los valores fueron semejantes a los iniciales.

Los linfocitos/ul de sangre, con una cifra de 2.235 ± 1.053 al inicio del estudio, experimentaron una variación entre la séptima y décimo quinta semana posterior a la captura, pero, con un valor final al concluir el estudio similar al del inicio.

Los monocitos, eosinófilos y basófilos no variaron en los sucesivos muestreos realizados después de la captura, con respecto al primer análisis al tercer día de llegadas las aves al Zoológico.

Los pingüinos estudiados presentaron variaciones individuales en los componentes leucocitarios, especialmente en lo referente a valores relativos y absolutos de monocitos, eosinófilos y basófilos, demostrado por los altos coeficientes de variación obtenidos (cuadro 4-5 y anexo 2).

CUADRO 4: VALORES LEUCOCITARIOS RELATIVOS Y ABSOLUTOS OBTENIDOS EN CHILE

CONSTITUYENTE SANGUÍNEO	3. Semana Post-captura		7. Semana Post-captura		15. Semana Post-captura	
	n	± S.E.	n	± S.E.	n	± S.E.
Heterófilos	12	70,9	12	64,8	12	64,8
Linfocitos	12	2,2	12	2,2	12	2,2
Monocitos	12	2,2	12	2,2	12	2,2
Eosinófilos	12	2,2	12	2,2	12	2,2
Basófilos	12	2,2	12	2,2	12	2,2

CUADRO 4: VALORES LEUCOCITARIOS RELATIVOS DE PINGUINOS DE HUMBOLDT ADULTOS
 CUADRO 5: OBTENIDOS EN CAUTIVIDAD.

CONSTITUYENTE SANGUINEO	3 Dias Post-captura			3 Semenas Post-captura			7 Semenas Post-captura			15 Semenas Post-captura		
	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%
Heterófilos %	13	72,7 ± 4,98 ab	6,8	12	75,0 ± 9,57 a	12,7	11	75,1 ± 10,53 a	14,0	14	62,8 ± 9,70 b	15,5
Linfocitos %	13	20,2 ± 5,75 a	28,6	12	17,3 ± 7,50 a	43,3	11	15,2 ± 8,08 a	53,3	14	22,8 ± 9,50 a	41,7
Monocitos %	13	4,3 ± 3,10 a	71,8	12	3,2 ± 3,21 a	101,5	11	5,7 ± 3,25 a	56,9	14	4,4 ± 4,09 a	93,8
Eosinófilos %	13	2,8 ± 2,95 b	106,5	12	4,5 ± 4,29 ab	95,5	11	4,1 ± 4,21 bc	102,8	14	10,3 ± 8,64 a	84,0
Basófilos %	13	0	-----	12	0,1 ± 0,28 a	346,0	11	0	-----	14	0,1 ± 0,27 a	374,2

Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (p<0,05).

CUADRO 5: VALORES LEUCOCITARIOS ABSOLUTOS DE PINGUINOS DE HUMBOLODT OBTENIDOS EN CAUTIVIDAD.

CONSTITUYENTE SANGUINEO	3 Dias Post-captura			3 Semanas Post-captura			7 Semanas Post-captura			15 Semanas Post-captura		
	N	X ± S	C.V.%	N	X ± S	C.V.%	N	X ± S	C.V.%	N	X ± S	C.V.%
Leucocitos ul	13	11660,4 ± 5632,32 ab	48,3	11	15949,8 ± 4626,65 a	29,0	10	9841,3 ± 2450,76 b	24,9	13	13011,1 ± 3762,90 ab	28,9
Heterófilos ul	13	8510,0 ± 4199,87 ab	49,4	11	11909,9 ± 3483,81 a	29,3	10	7411,2 ± 2067,49 b	27,9	14	8032,7 ± 3185,59 a	39,7
Linfocitos ul	13	2235,5 ± 1053,99 ab	47,1	11	2793,4 ± 1774,24 ab	63,5	10	1369,3 ± 752,97 b	55,0	14	2855,3 ± 1431,72 a	50,1
Monocitos ul	13	480,4 ± 416,69 a	86,7	11	575,6 ± 560,48 a	97,4	10	546,7 ± 363,28 a	66,5	14	637,3 ± 801,21 a	125,7
Eosinófilos ul	13	434,2 ± 684,81 a	157,7	11	659,5 ± 598,69 a	90,8	10	426,6 ± 562,54 a	131,9	14	1146,6 ± 934,09 a	81,5
Basófilos ul	13	0 0 a	-----	11	10,1 ± 33,47 a	331,7	10	0 0 a	-----	14	12,2 ± 45,70 a	374,2

letras distintas indican diferencias estadísticas significativas, (p<0,05)

MORFOLOGIA DE LAS CELULAS SANGUINEAS

La diferenciación de trombocitos, eritrocitos y leucocitos se realizó mediante la observación de los frotis sanguíneos teñidos con Giemsa, con un aumento de 1.000.

De acuerdo a lo descrito por Zinsmeister (1988), y Lucas y Jamroz (1961), los heterófilos se reconocieron como células grandes y redondeadas, con un núcleo polimorfonuclear consistente en 2 a 3 lóbulos que se encuentra en la periferia de la célula y se tiñe de un color púrpura azulado. Su citoplasma se observó de un color celeste pálido y con abundantes gránulos pequeños teñidos de un color rojo brillante (FOTO 2 y 3). Los eosinófilos, similares a los heterófilos en tamaño y forma, se diferencian de estos, por presentar un núcleo teñido de un color púrpura intenso, que permite distinguir con mayor claridad su forma lobulada, además, su citoplasma contiene gránulos de mayor tamaño, delimitados claramente y teñidos de un color rojo anaranjado o café (FOTO 2 y 4).

Los linfocitos se presentaron como células de tamaño variable, pero, por lo general más pequeñas que las células descritas anteriormente. Contienen un solo núcleo de gran tamaño que se tiñe de un intenso color púrpura, que permite reconocer sus bordes claramente; con frecuencia se observa descentralizado, contactando la membrana citoplasmática en algún punto. El citoplasma se observa teñido de un color azul, es escaso y algunas veces se encuentra rodeando

sólo una pequeña parte del núcleo (**FOTO 4**). Otras veces se puede apreciar rodeándolo completamente (**FOTO 3**).

Los monocitos son los leucocitos más grandes, presentan una forma muy irregular y a veces es difícil ver con claridad el límite de su citoplasma. Su núcleo único de forma irregular, se tiñe de color púrpura. El citoplasma es abundante, difuso de un color celeste pálido, presentando en su interior una gran cantidad de vacuolas de distintos tamaños (**FOTO 5**).

Los eritrocitos, se observaron de forma elíptica y de bordes muy regulares, presentando un núcleo central de igual forma, el núcleo se tiñe de color púrpura azulado y el citoplasma rosado. Con frecuencia, se observaron algunos eritrocitos inmaduros, que son de menor tamaño, con un núcleo central más grande, de forma circular y con una cromatina menos densa, el citoplasma se tiñe de un color gris azulado (**FOTO 2 y 3**).

Los trombocitos (**FOTO 4 y 5**) equivalentes a las plaquetas en los mamíferos, son las células sanguíneas más pequeñas, por lo general solamente fue posible observar el núcleo, el cual presenta una forma redondeada, de mayor tamaño que el núcleo de los eritrocitos y teñido de un intenso color púrpura. Su citoplasma es escaso y prácticamente no se observa, siendo posible visualizarlo sólo cuando se encuentra en contraste con otras células; es posible ver algunas vacuolas en su interior (**FOTO 5**).

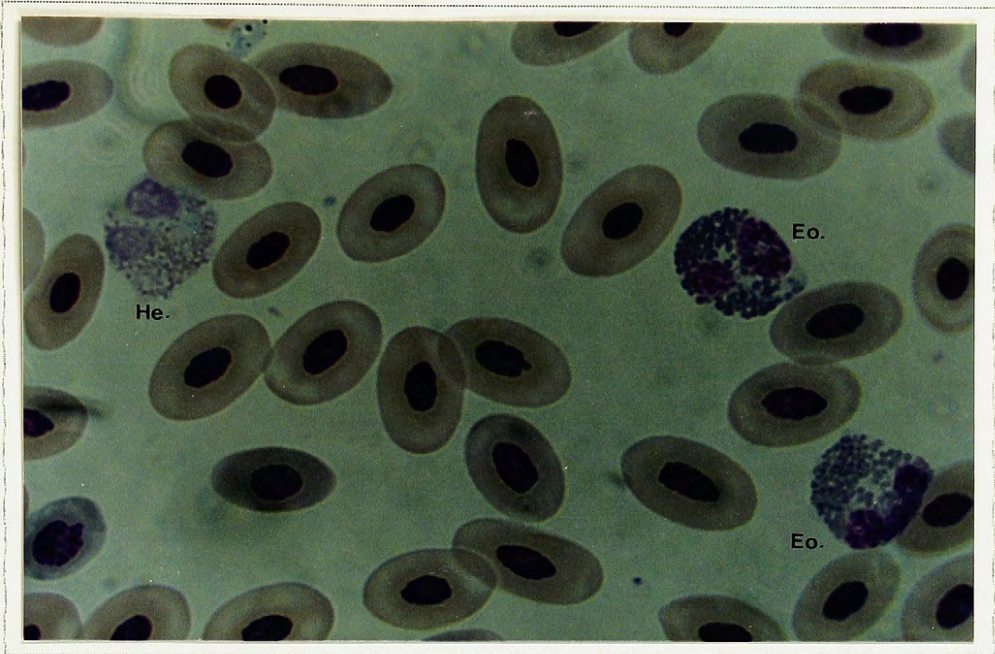


FOTO 2. He : Heterófilo; Eo : Eosinófilo. Tinción Giemsa, x 1.000.

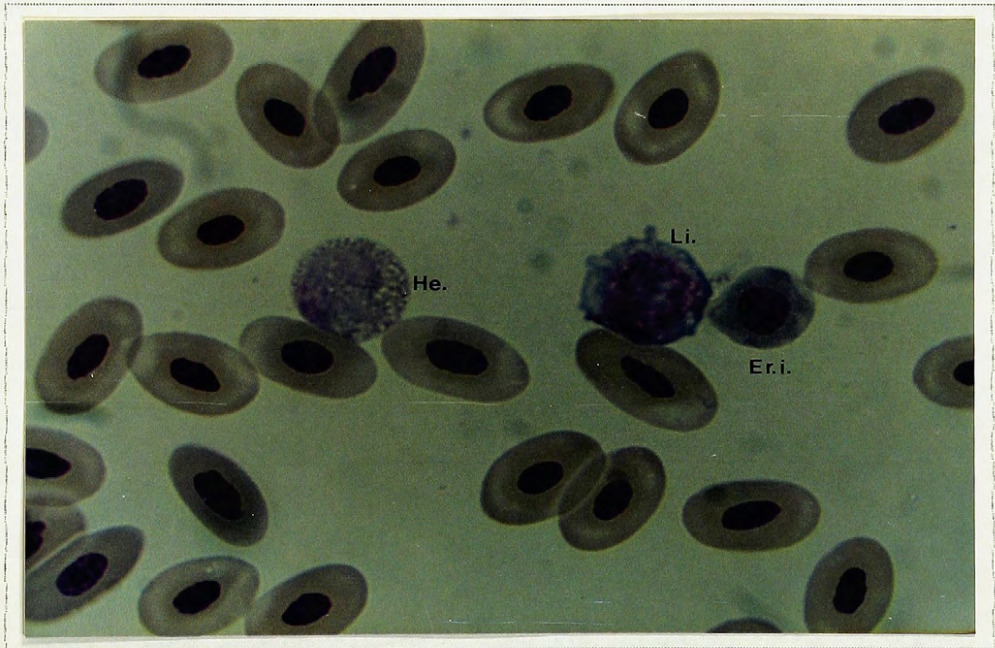


FOTO 3. He : Heterófilo ; Li : Linfocito ; Eri.i. : Eritrocito inmaduro
Tinción Giemsa, x 1.000.

Biblioteca Prof. Ramón Rodríguez-Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias

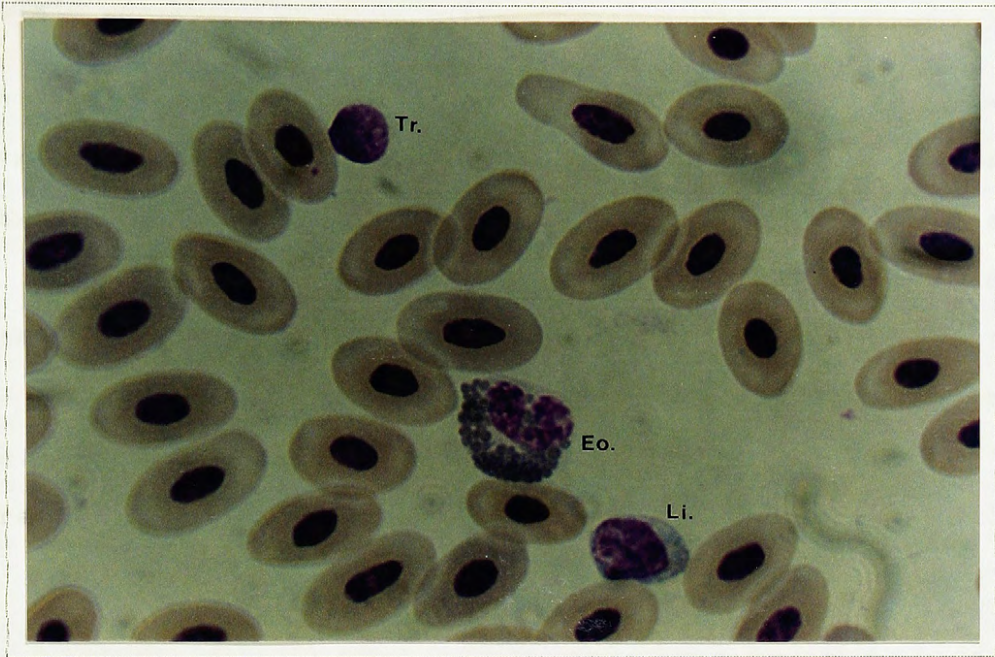


FOTO 4. Eo : Eosinófilo ; Li : Linfocito ; Tr : Trombocito.
Tinción Giemsa, x 1.000.

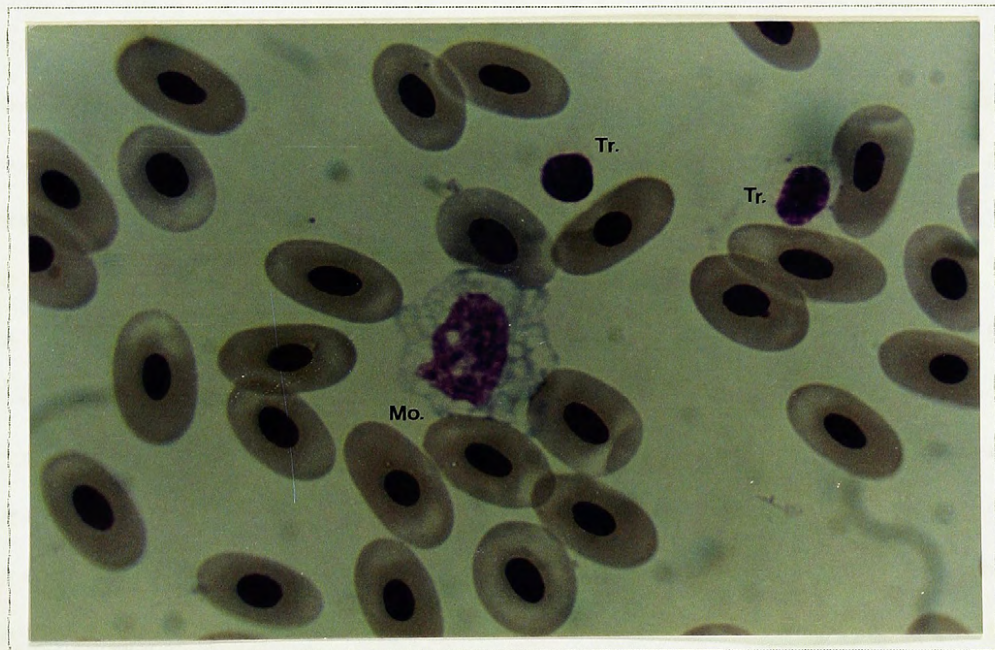


FOTO 5. Mo : Monocito ; Tr : Trombocito. Tinción Giemsa, x 1.000.

IV VALORES DE QUIMICA SANGUINEA

En el cuadro 6, se presentan algunos valores de química sanguínea del pingüino de Humboldt (los valores individuales se entregan en el anexo 3). Las proteínas plasmáticas totales ($5,96 \pm 0,84$ g/dl) y las globulinas ($3,46 \pm 1,08$ g/dl), experimentaron una variación entre la tercera y séptima semana post captura, volviendo a la décimo quinta semana a los valores iniciales obtenidos inmediatamente después de la captura. A diferencia de lo anterior, la albúmina ($2,53 \pm 0,84$ g/dl) y el fibrinógeno ($0,49 \pm 0,12$ g/dl), no experimentaron variaciones significativas durante todo el periodo de estudio.

Los pingüinos, presentaron un valor de aspartato amino transferasa (AST) de $114,71 \pm 50,5$ U/l a los tres días después de la captura, cifra que experimentó un aumento gradual y significativo a través del periodo de estudio, alcanzando un valor promedio final de $200,9 \pm 67,4$ U/l a la décimo quinta semana post captura.

La glucosa sanguínea presentó una concentración de $229,71 \pm 38,3$ mg/dl a los tres días post captura, cifra que no se modificó significativamente durante el periodo que comprendió este estudio.

Las aves estudiadas presentaron una baja concentración de nitrógeno ureico sanguíneo, con un valor de $4,95 \pm 0,72$ mg/dl a los tres días post captura. Este valor experimentó

CUADRO 6: VALORES DE QUÍMICA SANGUÍNEA DE PINGUINOS DE HUMBOLDT ADULTOS OBTENIDOS EN CAUTIVIDAD.

CONSTITUYENTE SANGUÍNEO	3 Días Post-captura			3 Semanas Post-captura			7 Semanas Post-captura			15 Semanas Post-captura		
	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%	N	X ± S	C.V%
Proteína Total g/dl	15	5,96 ± 0,84 ab	14,2	13	5,50 ± 0,56 b	10,2	12	6,60 ± 0,73 a	11,0	14	6,16 ± 0,81 ab	13,1
Albumina g/dl	14	2,53 ± 0,84 a	33,4	12	2,13 ± 0,51 a	24,0	11	2,25 ± 0,15 a	6,7	14	2,34 ± 0,77 a	33,0
Globulinas g/dl	14	3,46 ± 1,08 b	31,2	12	3,36 ± 0,59 b	17,7	11	4,40 ± 0,74 a	16,9	14	3,82 ± 0,65 ab	17,1
Fibrinógeno g/dl	15	0,49 ± 0,12 a	24,4	13	0,35 ± 0,15 a	42,6	11	0,45 ± 0,19 a	42,2	14	0,51 ± 0,32 a	62,6
AST U/L	14	114,71 ± 50,45 c	44,0	11	187,18 ± 53,34 ab	28,5	11	128,45 ± 59,39 bc	46,2	14	200,90 ± 67,38 a	33,5
Glucosa mg/dl	14	229,71 ± 38,25 a	16,7	11	219,18 ± 25,98 a	11,9	12	257,66 ± 61,68 a	23,9	14	249,80 ± 37,44 a	15,0
N.U.S. mg/dl	14	4,95 ± 0,72 b	14,5	11	6,15 ± 0,95 a	15,4	12	3,48 ± 0,71 c	20,4	13	4,17 ± 0,85 bc	20,3
Ac. Úrico mg/dl	-----	-----	-----	-----	-----	-----	11	7,55 ± 2,33 a	30,9	12	6,29 ± 1,41 a	22,4

Letras distintas indican diferencias estadísticas significativas (p<0,05).

DISCUSION

Generalmente en investigaciones de esta naturaleza, donde los objetivos son determinar valores de referencia para ciertos constituyentes sanguíneos, el tamaño de la muestra a utilizar se obtiene considerando una medida de variabilidad (coeficiente de variación, desviación, amplitud ,etc.) de las características a estudiar. En este trabajo, independientemente del número de animales que se estableció como óptimo, debido a que el pingüino de Humboldt es una especie que se encuentra protegida, fue necesario ajustarse al número de aves que las instituciones encargadas de su control estimaron conveniente, para resguardar la seguridad de esta especie. Por otra parte, dado a que son aves silvestres, la literatura existente confirma el bajo número de aves que en general se utilizan en estos estudios, entregando valores que pueden estar sujetos a grandes variaciones.

Además del tamaño de la muestra, la condición sanitaria de los animales es una característica que influye considerablemente en los constituyentes sanguíneos obtenidos. Este estudio estuvo orientado a la determinación de valores de referencia preliminares, es decir, en aves clínicamente sanas. No obstante que en el momento de la captura, se tomaron todas las precauciones para seleccionar aves con buen estado físico, corporal, condición del plumaje y anímico

(agresividad o conducta de defensa mostrada frente a la captura), se desconoce si algunas de las aves seleccionadas se encontraban incubando algún cuadro infeccioso u otra alteración subclínica en ese momento, que pudiese haber alterado los resultados obtenidos.

Desde el momento de la captura, los pingüinos estuvieron sometidos a cambios importantes en su modelo de vida. Es así como una vez llegados a su lugar definitivo en el Zoológico de Santiago, se vieron en la necesidad de adaptarse a una condición distinta. Tres meses fue el tiempo mínimo que se estimó como el adecuado para que las aves se acostumbraran al manejo y vida en cautividad, de acuerdo a las observaciones realizadas en otras especies silvestres que han sido trasladadas al Zoológico (Riveros, 1991)*. Este período de tiempo que se determinó, pareció ser el adecuado, ya que casi la totalidad de los constituyentes sanguíneos analizados y que experimentaron cambios significativos entre la tercera y séptima semana post captura, a la décimoquinta semana volvieron a los valores iniciales. Esto también fue corroborado por el comportamiento demostrado por las aves, las cuales se observaban tranquilas y alimentándose regularmente.

El factor sexo no fue considerado en este estudio debido

* Dr. Victor Riveros, Médico Veterinario, Zoológico del Parque Metropolitano "San Cristobal".

Comunicación personal 1991.

a la complejidad e inseguridad del método de sexaje ya que esta especie no presenta dimorfismo sexual (Sallaberry, 1982), por lo que se consideró a todos los pingüinos como un sólo grupo, suponiendo la existencia en él de hembras y machos.

Tampoco se consideró el factor edad, ya que se trabajó sólo con aves adultas. Sin embargo, el inconveniente que se presenta al respecto es el hecho que una vez que las aves cambian el plumaje que caracteriza a las aves juveniles, por el definitivo de las adultas, es imposible determinar la edad de estos animales, pudiendo abarcar un período que se extiende desde los 4 a los 25 a 30 años de edad (Scolaro, 1987; 1989; 1990).

Para la obtención de las muestras se realizó la extracción de sangre desde la vena braquial, considerado como el sitio que produce el menor estado de estrés en las aves, al ser comparado con los otros sitios de extracción como son la vena yugular y la punción intracardiaca, según lo descrito por Samour y col.(1983). Es importante señalar que durante la extracción de las muestras, debido a la rápida coagulación observada en la sangre de las aves (Stoskopf y col., 1983), fue necesario reducir tanto como fue posible el tiempo empleado en dicho proceso, como también, humedecer previamente las jeringas que se utilizaron con EDTA y heparina, para el análisis del hemograma y de la química sanguínea respectivamente.

1987 Al inicio de este estudio, es decir, al tercer día después de la captura, los pingüinos de Humboldt presentaron un peso promedio de $4.231 \pm 480,8$ grs, valor comparable al señalado por Sallaberry (1982) para los adultos de esta especie. Sin embargo, en los sucesivos controles se pudo observar que a la tercera semana hubo una tendencia a la disminución del peso corporal, sin llegar a ser estadísticamente significativa. Esta situación se debió sin duda, al período de inanición mostrado por las aves las primeras dos semanas de llegadas al Zoológico, probablemente estresadas por el cambio en su hábito alimenticio. Posterior a dicho período, las aves aprendieron a comer del alimento que se les ofrecía, así como a reconocer el horario y el guardia encargado de ellas. Debido también a la baja actividad física y desgaste energético en relación al estado silvestre, las aves no sólo recuperaron su peso inicial, sino que presentaron un aumento significativo a la décimoquinta semana, alcanzando un valor de $4.975 \pm 567,3$ grs.

Considerando todas las determinaciones que se realizaron durante esta investigación, sin duda lo que presentó la mayor complejidad fue el recuento de las células sanguíneas. Debido a que todas ellas son nucleadas en las aves, el recuento, según el método del hemocitómetro y con el uso de un sólo diluyente, se realiza en la misma área de la cámara de Neubauer, efectuando la diferenciación de las células simultáneamente (Natt y Herrick, 1952; Stoskopf y col.,

1983). De acuerdo a estos autores la diferenciación entre eritrocitos, leucocitos y trombocitos, al utilizar el diluyente de Natt-Herrick se realiza fácilmente, ya que la forma ovalada y el color violeta característico de los eritrocitos permite distinguirlos claramente de las otras células. Sin embargo, en este trabajo con el mismo diluyente no fue posible diferenciar con seguridad leucocitos de trombocitos, aunque estos autores así lo señalan, principalmente por las características de tinción, tamaño y forma de estas células. Cabe señalar que previo al estudio en los pingüinos de Humboldt, se probaron otros diluyentes para aves propuestos en la literatura, como el de Darcel (citado por Rudolph y col. 1985), dando mejores resultados el de Natt-Herrick.

Considerando la dificultad señalada anteriormente en este trabajo, leucocitos y trombocitos se contaron juntos en la cámara, realizándose posteriormente a través del frotis sanguíneo la diferenciación, tal como se señaló en el material y método. Otros autores como Jain (1986), también describen un método de recuento indirecto para los trombocitos.

Tal como se ha descrito anteriormente para otras especies de pingüinos, los de Humboldt también poseen un bajo número de eritrocitos, en comparación a otras aves y especialmente a los mamíferos (Hodges, 1977). En la especie estudiada, se determinó un número de eritrocitos/ul que

fluctuó en un rango de $1,81 \times 10^6$ a $2,08 \times 10^6$ células, cifra comparable a la descrita para las especies Eudyptula minor por Nicol y col. (1988), "Black footed" por Stoskopf (1983) y "Rockhopper", Papúa y Magallanes por Hawkey y col. (1988). El gran tamaño de los eritrocitos con un V.C.M. que fluctuó entre valores promedios de 207,4 a 238,1 fl, observado en los pingüinos de Humboldt, coincidió con lo ya descrito para las especies antes mencionadas. Esta relación tamaño/número, da como resultado un VGA, una concentración de hemoglobina en la sangre y una C.H.C.M. similar a la de mamíferos (Schalm y col., 1975). Los rangos obtenidos de VGA de 41 a 45 %, de Hb de 14,4 a 15,5 g/dl y de C.H.C.M. de 34,2 a 34,9 g/dl en el pingüino de Humboldt, fueron similares a los descritos en las otras especies, salvo a las del Papúa, que presentó una Hb y un C.H.C.M. ligeramente superiores (Hawkey, 1988). Los valores de VGA dados por Guard y col. (1975) para las especies de Adelia, "Chinstrap" y Papúa, fueron mayores a los obtenidos en el presente trabajo.

Cabe destacar que los valores eritrocitarios no experimentaron variaciones significativas durante el periodo de adaptación al cautiverio, lo que permitiría utilizarlos como valores preliminares de referencia, tanto para pingüinos de Humboldt en estado silvestre como en cautividad. A diferencia de lo anterior, Hawkey y col. (1989), determinaron algunas diferencias significativas en Hb y hemoglobina corpuscular media (H.C.M.), entre pingüinos de

las especies "Rockhooper" y Papúa en cautividad y silvestres.

La mayoría de los escasos estudios hematológicos obtenidos en pingüinos, no incluye recuentos totales de leucocitos, ya que según algunos autores no se cuenta con técnicas de terreno adecuadas (Hawkey y col. 1989) o debido a la dificultad de la técnica en cuestión. La cuenta total de leucocitos/ul de sangre, obtenida para el pingüino de Humboldt varió entre $9.841,3 \pm 2.450,76$ y $15.949,8 \pm 4.626,65$ células, con una variación entre la tercera y séptima semana post captura, debida principalmente a un aumento absoluto no significativo de los heterófilos a la tercera semana. Este hecho podría atribuirse a una reacción estrés, a pesar que no se observó una linfopenia y eosinopenia concomitante, característico de este cuadro en los mamíferos (Breazile, 1988).

Los valores de leucocitos totales obtenidos en este estudio para el pingüino de Humboldt, son similares a los entregados por Stoskopf y col. (1983) para la especie "Blackfooted". Sin embargo, son superiores a los descritos por Hawkey y col. (1985), quienes dan una cuenta total de leucocitos de 6.000/ul, para la especie Papúa.

Los heterófilos, resultaron ser los leucocitos más abundantes en la sangre del pingüino de Humboldt, con un valor porcentual que fluctuó entre 62,8 a 75,1 %, seguidos por los linfocitos en un rango de 15,2 a 22,8 %. La

distribución de estas células presentó la misma tendencia observada en las especies de Adelia, Papúa y "Chinstrap" en estado silvestre (Zinsmeister y VanDerHeyden, 1987), y en la especie Papúa en cautividad (Hawkey y col., 1985), pero, con ligeras variaciones en los porcentajes.

En relación al efecto del cautiverio sobre la distribución de heterófilos y linfocitos, existen algunas contradicciones entre los autores, ya que Hawkey y col. (1989), determinaron que los linfocitos son las células predominantes en estado silvestre, mientras que en aves en cautividad predominan los heterófilos, a diferencia de lo descrito anteriormente por Zinsmeister y VanDerHeyden (1989).

Este hecho, establece una diferencia con aves domésticas, donde los linfocitos son las células predominantes de la sangre (Hodges, 1977).

Los valores relativos y absolutos de monocitos, eosinófilos y basófilos obtenidos en el pingüino de Humboldt, fueron similares a los entregados para otras especies de pingüinos (Zinsmeister y VanDerHeyden, 1987; Hawkey y col., 1985; Hawkey y col., 1989).

Los valores absolutos de los distintos leucocitos obtenidos para el pingüino de Humboldt, no obstante que experimentaron algunas variaciones entre la tercera y séptima semana, especialmente en el caso de heterófilos y linfocitos, al término del periodo de estudio volvieron a los valores iniciales (3 días post captura), por lo cual podrían también

considerarse como valores preliminares de referencia. Dada la escasa información existente en la literatura al respecto, estos valores absolutos obtenidos son un aporte al conocimiento hematológico de la familia Spheniscidae. Debe destacarse la gran variabilidad individual observada, lo que ameritaría estudios futuros con un mayor número de animales.

3. En relación a los trombocitos, el pingüino de Humboldt presentó un rango de $15.599,9 \pm 2.880,69$ a $23.646,9 \pm 7.739,28$ células/ul de sangre. Dado que en la literatura disponible no se encontraron valores de referencia para la familia de los pingüinos, las cifras obtenidas en este trabajo sólo pueden compararse con las citadas para aves domésticas. Es así como Hodges (1977), entrega algunos valores promedios de trombocitos para aves en producción que son bastantes variables, fluctuando entre 26.000 trombocitos /ul de sangre en gallinas adultas y 132.000/ul en codornices en postura.

Al igual que en hematología, los estudios disponibles de química sanguínea en el pingüino son escasos y las observaciones realizadas comprenden un bajo número de ejemplares.

En este trabajo, los pingüinos de Humboldt presentaron una concentración de proteínas plasmáticas totales que fluctuó entre $5,50 \pm 0,56$ a $6,60 \pm 0,73$ g/dl. Estas cifras son relativamente similares a las descritas para otras especies de pingüinos como "Blackfooted" (Stoskopf y col.

1983); Adelia, "Chinstrap" y Papúa (Guard y Murrish, 1974), pero, superiores a los valores obtenidos por Nicol y col. (1988) de $2,96 \pm 0,55$ en el pequeño pingüino de la especie Eudyptula minor y por Ghebremeskel y col. (1989) en el pingüino Papúa con valores de $4,57 \pm 2,6$ g/dl.

Las globulinas se presentaron en mayor concentración ($3,36 \pm 0,59 - 4,40 \pm 0,74$ g/dl) que la albúmina ($2,13 \pm 0,51 - 2,53 \pm 0,84$ g/dl) en el plasma. Estas cifras son similares a la mayoría de las descritas para otras especies de pingüinos antes mencionadas, salvo a las del pingüino Papúa con un valor promedio de albúmina de $1,97 \pm 1,6$ g/dl y $2,6 \pm 2,2$ g/dl de globulinas (Ghebremeskel y col., 1989).

Cabe señalar que los pingüinos experimentan una significativa disminución fisiológica de las proteínas plasmáticas totales y de la albúmina después del período de pelecha (Ghebremeskel y col., 1989), por lo que es importante considerar este factor al interpretar los valores de química sanguínea de estas aves. Previo a la pelecha, los pingüinos presentan un aumento considerable de la ingesta de alimentos, para posteriormente durante la misma, experimentar un ayuno. Esta situación afecta significativamente el peso corporal (Williams y col., 1977) y algunos constituyentes sanguíneos como se mencionó anteriormente. Es necesario recordar, que los pingüinos utilizados en este trabajo no se encontraban en período de pelecha.

El fibrinógeno determinado en el pingüino de Humboldt

presentó una concentración similar a la de otras especies como la citada para el pingüino Papúa (Hawkey, 1985), también resultó semejante a la descrita en otras aves y mamíferos (Jain, 1986).

En este trabajo se determinó en el pingüino de Humboldt la concentración plasmática de aspartato amino transferasa, como una enzima con valor diagnóstico en posibles alteraciones hepáticas y musculares; también, porque en las aves su concentración es mayor que la de alanino amino transferasa cuyo origen es principalmente hepático (McDaniel y Chute, 1961).

La enzima AST en los pingüinos estudiados experimentó un aumento desde el tercer día post captura hasta la decimoquinta semana, desde $114,71 \pm 50,45$ U/l a $200,90 \pm 67,38$ U/l; el cual, aunque significativo, no fue de mayor magnitud. No obstante lo anterior, estas cifras corresponden a las descritas en el pingüino Papúa de $119,7 \pm 46,1$ U/l. Las posibles explicaciones de la variación de AST, observada en el periodo de adaptación al cautiverio, estarían relacionadas con el estado de inanición que experimentaron los pingüinos al inicio del estudio, en el cual el organismo, debe hacer uso de sus reservas energéticas, en tal proceso el hígado juega un rol principal en la movilización de ácidos grasos. (McDaniel y Chute, 1961). Los pingüinos en este estudio presentaron una concentración de glucosa sanguínea que fluctuó en un rango de

glicemia, a diferencia de la descrita por algunos autores donde esta característica no se especifica.

En este estudio, se determinó nitrógeno ureico sanguíneo (NUS) y ácido úrico, el que sólo fue posible medirlo en los últimos dos muestreos. En general, se describe bajos valores de nitrógeno ureico para las aves domésticas (2,0 mg/dl; Panigrahy y col., 1986) y en algunas especies de pingüinos como el Papúa, una cifra de 7,2 mg/dl de urea, equivalente a 3,6 mg/dl de nitrógeno ureico (Ghebremeskel y col., 1989). En comparación a estos valores, los obtenidos en el pingüino de Humboldt resultaron levemente más altos. El NUS experimentó un aumento a la tercera semana post captura, volviendo al valor inicial al término del estudio, este leve aumento podría estar relacionado con un aumento del catabolismo proteico (gluconeogénesis) durante el período de inanición experimentado por las aves durante las dos primeras semanas de cautividad. Esta variación, además coincidió con el descenso del peso corporal en ese mismo período.

En las aves el ácido úrico es el resultado final del metabolismo del nitrógeno, pudiendo experimentar variaciones ya sea por un desequilibrio proteico en la alimentación o bien por algún daño renal (Panigrahy y col., 1986; Chandra y col., 1985). En relación a este constituyente sanguíneo, los valores obtenidos en el pingüino de Humboldt resultaron levemente inferiores al compararlos con los citados por Bowes y col. (1989) para pollos Broiler machos y hembras con un

rango promedio de $5,79 \pm 1,32$ a $10,86 \pm 2,97$ mg/dl.

En general, después del análisis de los resultados hematológicos y de química sanguínea obtenidos en el pingüino de Humboldt y al compararlos con los valores descritos en otras especies pertenecientes a la familia Spheniscidae, se puede concluir, que esta especie presenta ciertas características que le son propias y que son importantes de considerar al utilizar estos valores de referencia como apoyo en un determinado diagnóstico clínico.

Por otra parte, al comparar los valores obtenidos el tercer día después de efectuada la captura con los sucesivos muestreos, a pesar de observarse ciertas variaciones en algunos constituyentes sanguíneos entre la tercera y séptima semanas, estos volvieron a las cifras iniciales, reflejando que en relación a los parámetros sanguíneos analizados no existiría diferencia entre las aves en estado silvestre y en cautividad, no obstante, que el primer muestreo no se realizó en el momento de la captura, sino tres días después.

Estos tres últimos días de observación presentaron una gran variabilidad individual.

Tanto los constituyentes hematológicos y de química sanguínea determinados como los de la última de muestreo presentaron algunas variaciones en relación a los valores descritos para otras especies de pingüinos, como también variaciones individuales.

CONCLUSIONES

- El estudio hematológico y de química sanguínea del pingüino de Humboldt, desde el estado silvestre hasta los 3 meses en cautividad, no demostró variaciones significativas en la mayoría de los constituyentes analizados. En consecuencia, los valores obtenidos podrían ser utilizados como referencia en ambos estados.

- El pingüino de Humboldt, al igual que lo descrito para otras especies de pingüinos, presentó un bajo recuento de eritrocitos, pero, debido a su gran tamaño celular, el hematocrito y la concentración de hemoglobina presentaron valores comparables a los de mamíferos.

- Los leucocitos más abundantes observados en esta especie fueron los heterófilos, seguidos por los linfocitos, mientras que monocitos y eosinófilos se presentaron en baja proporción, siendo escasos o inexistentes los basófilos. Estos tres últimos tipos celulares presentaron una gran variabilidad individual.

- Tanto los constituyentes hematológicos y de química sanguínea determinados para el pingüino de Humboldt, presentaron algunas diferencias en relación a los valores descritos para otras especies de pingüinos, como también variaciones individuales.

ANEXO 1

VALORES HEMATOLOGICOS INDIVIDUALES DE LA SERIE ERITROCITARIA Y TROMBOCITOS, DE LOS PINGÜINOS DE HUMBOLDT ESTUDIADOS.

HEMOGRAMA 1 3 DIAS POST CAPTURA

N°PIN.	G.R. x 10 ⁶ /ul	V.G.A. %	Hb. g/dl	V.C.M. fl	C.H.C.M. g/dl	TROM. ul
1	1,25	26	10,8	208	41	17686
2	2,51	52	17,7	207	34	21163
3	1,77	40	13,8	225	34	29693
4	1,72	40	13,8	232	34	26513
5	2,21	46	13,1	208	28	21061
6	1,60	37	15,7	231	42	21275
7	1,84	44	14,1	239	32	-
8	2,05	48	16,0	234	33	22413
9	2,12	41	12,8	194	31	16606
10	2,12	42	15,1	199	36	20500
11	2,28	43	14,7	189	34	28413
12	2,12	47	16,4	221	35	16311
13	1,85	27	10,5	146	39	-
14	1,88	41	14,7	218	36	16670
15	1,76	47	16,4	267	35	11245

HEMOGRAMA 2 3 SEMANAS POST CAPTURA

1	1,41	32	11,1	226	34	-
2	2,13	50	19,0	234	38	13427
3	2,14	38	14,4	178	37	25552
4	1,78	36	13,1	202	36	20821
5	2,18	43	14,7	197	34	17277
6	2,91	48	16,4	165	34	32155
7	2,06	44	15,7	214	35	12308
8	2,41	45	17,7	187	39	18162
10	2,02	41	14,1	203	34	24503
11	2,23	44	13,8	197	31	33285
12	1,85	41	13,8	222	34	31559
14	2,13	44	14,7	207	33	31067
15	1,85	48	17,0	264	35	-

HEMOGRAMA 3

7 SEMANAS POST CAPTURA

N°PIN.	G.R. x 10 ⁶ /ul	V.G.A. %	Hb. g/dl	V.C.M. fl	C.H.C.M. g/dl	TROM. ul
1	1,77	40	15,0	225	37	22129
2	1,95	48	17,0	246	35	-
4	2,26	48	16,7	212	36	18411
5	1,91	40	15,7	209	39	13230
6	1,93	45	14,7	233	33	15052
7	2,25	48	15,4	213	32	13203
8	1,97	52	16,4	263	32	14626
10	1,75	48	13,1	270	28	15678
11	2,47	49	17,0	198	35	12379
12	1,86	41	14,4	220	35	14884
14	1,63	44	15,1	269	34	16407
15	-	-	-	-	-	-

HEMOGRAMA 4

15 SEMANAS POST CAPTURA

1	1,82	40	13,7	219	34	11019
2	1,79	41	13,7	229	33	29273
4	1,81	48	17,0	265	35	16159
5	2,07	40	14,1	193	35	21680
6	1,82	42	14,4	230	34	16535
7	2,18	51	17,3	233	34	-
8	1,62	42	15,0	259	36	19975
10	2,15	47	16,7	218	36	15192
11	2,06	47	17,0	228	36	21094
12	1,69	41	13,1	254	32	17969
14	1,58	40	14,7	253	37	15214
15	1,77	45	16,7	254	37	17585
16	1,44	37	13,4	262	36	13720
16*	1,65	39	13,1	236	33	22367

16, 16*: valores del pingüino de Humboldt que permanecía en cautividad en el Zoológico del parque metropolitano San Cristobal, antes de la captura.

ANEXO 2

VALORES HEMATOLOGICOS INDIVIDUALES DE LA SERIE LEUCOCITARIA DE LOS PINGUINOS DE HUMBOLDT ESTUDIADOS.

HEMOGRAMA 1

3 DIAS POST CAPTURA

N°PIN	G.B. ul	Het %	Lin %	Mon %	Eos %	Bas %	Het ul	Lin ul	Mon ul	Eos ul	Bas ul
1	5402	75	21	2	2	0	4052	1134	108	108	0
2	6143	68	21	7	4	0	4177	1290	430	246	0
3	25807	71	18	2	9	0	18323	4645	516	2323	0
4	16111	74	18	0	8	0	11922	2899	0	1289	0
5	7133	76	17	5	2	0	5421	1213	357	143	0
6	8029	73	25	2	0	0	5861	2007	161	0	0
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	9333	64	24	10	2	0	5973	2240	933	187	0
9	12476	70	22	8	0	0	8733	2745	998	0	0
10	9470	74	22	3	1	0	7007	2083	284	95	0
11	11103	67	30	1	2	0	7439	3330	111	222	0
12	18099	81	6	8	5	0	14660	1086	1448	905	0
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	9748	81	15	4	0	0	7896	1462	390	0	0
15	12731	72	23	4	1	0	9166	2928	509	127	0

HEMOGRAMA 2

3 SEMANAS POST CAPTURA

1	-	74	20	0	7	0	-	-	-	-	-
2	11437	81	12	5	2	0	9263	1372	572	229	0
3	14186	93	7	0	0	0	13192	993	0	0	0
4	12923	73	11	0	16	0	9434	1421	0	2068	0
5	11139	65	26	7	1	1	7240	2896	779	111	111
6	15131	66	26	1	7	0	9986	3934	151	1059	0
7	9670	76	19	1	4	0	7349	1837	97	386	0
8	17802	69	15	10	6	0	12283	2670	1780	1068	0
10	18787	89	7	3	1	0	16720	1315	563	188	0
11	21549	63	27	6	4	0	13575	5818	1292	862	0
12	18613	82	13	2	3	0	15262	2419	372	558	0
14	24211	69	25	3	3	0	16705	6052	726	726	0
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

metropolitano. En el momento de la captura.

HEMOGRAMA 3

7 SEMANAS POST CAPTURA

N°PIN	G.B. ul	Het %	Lin %	Mon %	Eos %	Bas %	Het ul	Lin ul	Mon ul	Eos ul	Bas ul
1	13391	82	9	5	4	0	10980	1205	669	536	0
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	13113	65	17	5	14	0	8523	2229	656	1839	0
5	9858	70	19	2	9	0	6900	1873	197	887	0
6	9146	80	12	7	1	0	7317	1097	640	91	0
7	7887	88	10	2	0	0	6940	789	157	0	0
8	9350	72	16	11	1	0	6732	1496	1028	93	0
10	8076	88	7	3	2	0	7106	565	242	162	0
11	5381	55	35	6	4	0	2959	1883	323	215	0
12	11090	84	10	3	3	0	9315	110	332	332	0
14	11121	66	22	11	1	0	7340	2446	1223	111	0
15	-	76	10	8	6	0	-	-	-	-	-

HEMOGRAMA 4

15 SEMANAS POST CAPTURA

1	8517	52	26	1	21	0	4428	2214	85	1788	0
2	15349	68	19	5	9	0	10437	2916	767	1381	0
4	11369	50	19	0	31	0	5684	2160	0	3524	0
5	13174	69	20	7	4	0	9090	2635	922	527	0
6	12991	60	27	1	13	0	7794	3507	129	1688	0
7	-	69	21	5	5	0	-	-	-	-	-
8	16211	72	19	4	5	0	11671	3080	648	810	0
10	7896	70	12	6	12	0	5527	947	474	947	0
11	13316	41	50	2	7	0	5459	6658	266	932	0
12	15997	58	28	4	12	0	9278	4479	640	1919	0
14	9206	64	28	2	6	0	5891	2577	184	552	0
15	8389	61	19	1	19	0	5117	1593	83	1593	0
16	19580	74	10	16	0	0	14489	1958	3132	0	0
16*	17149	71	21	7	0	1	12175	3601	1200	0	171

16, 16*: valores del pingüino de Humboldt que permanecía en cautividad en el Zoológico del parque metropolitano San Cristóbal, antes de la captura.

ANEXO 3

VALORES INDIVIDUALES DE QUIMICA SANGUINEA DE 16 PINGÜINOS DE HUMBOLDT ESTUDIADOS.

QUIMICA SANGUINEA 1

3 DIAS POST CAPTURA

N°PIN	Prot gr/dl	Alb gr/dl	Glob gr/dl	Fibr gr/dl	AST u/l	Glucosa mg/dl	NUS mg/dl	Ac.Uri mg/dl
1	5,4	0,9	4,5	0,3	82	223	5,2	-
2	7,3	1,7	5,6	0,7	137	229	5,6	-
3	6,0	2,7	3,3	0,5	96	223	4,5	-
4	6,4	3,4	3,0	0,5	69	134	4,0	-
5	5,5	-	-	0,6	-	-	-	-
6	5,5	2,2	3,3	0,4	165	194	4,9	-
7	4,8	1,8	3,0	0,5	110	227	5,8	-
8	5,5	2,3	3,2	0,5	137	234	3,8	-
9	5,6	2,1	3,5	0,6	110	245	4,5	-
10	4,2	3,1	1,1	0,3	96	260	4,4	-
11	6,5	2,6	3,9	0,5	69	297	4,7	-
12	6,9	2,3	4,6	0,6	69	269	4,5	-
13	6,8	2,8	4,0	0,5	96	255	5,7	-
14	6,4	3,1	3,3	0,3	260	208	6,1	-
15	6,6	4,4	2,2	0,5	110	218	5,6	-

QUIMICA SANGUINEA 2

3 SEMANAS POST CAPTURA

1	5,7	2,1	3,6	0,4	179	197	5,2	-
2	5,7	1,7	4,0	0,3	-	-	-	-
3	5,2	-	-	0,1	-	-	-	-
4	4,7	1,4	3,3	0,4	192	225	6,0	-
5	5,1	1,5	3,6	0,5	220	237	6,0	-
6	5,7	2,0	3,7	0,5	247	235	8,0	-
7	6,5	2,7	3,5	0,1	137	237	7,0	-
8	6,2	2,7	3,5	0,3	151	248	6,0	-
10	5,2	2,4	2,8	0,5	137	215	6,0	-
11	5,8	2,6	3,2	0,5	192	210	6,0	-
12	4,8	2,9	1,9	0,3	96	187	6,0	-
14	4,9	1,8	3,1	0,5	247	170	7,0	-
15	6,0	1,8	4,2	0,2	261	250	4,4	-

QUIMICA SANGUINEA 3

7 SEMANAS POST CAPTURA

N°PIN	Prot gr/dl	Alb gr/dl	Glob gr/dl	Fibr gr/dl	AST u/l	Glucosa mg/dl	NUS mg/dl	Ac.Uri mg/dl
1	7,3	2,2	5,1	0,7	69	330	2,8	6,2
2	5,9	2,3	3,6	0,2	247	108	2,2	3,1
4	6,2	2,1	4,1	0,3	179	300	4,2	7,6
5	6,1	-	-	0,5	-	320	4,2	-
6	6,0	2,4	3,6	0,2	110	230	4,4	6,5
7	6,1	2,4	3,7	0,4	82	239	3,7	7,2
8	6,6	2,0	4,6	0,8	82	207	3,7	8,6
10	6,8	2,3	4,5	0,6	82	259	3,0	11,7
11	8,0	2,2	5,8	0,4	137	318	3,5	10,0
12	7,8	2,5	5,3	0,5	82	260	2,8	5,2
14	6,4	2,1	4,3	0,4	137	236	3,0	8,7
15	6,0	2,2	3,8	-	206	285	4,2	8,3

QUIMICA SANGUINEA 4

15 SEMANAS POST CAPTURA

1	8,0	4,8	3,2	1,0	233	230	3,8	9,4
2	7,4	2,4	5,0	1,2	262	241	2,6	5,6
4	6,4	1,8	4,6	0,3	204	267	4,5	8,1
5	6,8	2,1	4,7	0,4	175	260	5,8	4,6
6	5,8	2,0	3,8	0,7	204	227	3,8	5,1
7	6,0	2,1	3,9	0,3	262	260	4,5	7,2
8	6,0	2,7	3,3	0,4	204	260	3,8	6,5
10	5,2	2,1	3,1	0,3	175	320	3,8	5,6
11	6,6	2,2	4,4	0,2	145	274	5,1	5,0
12	5,6	1,4	4,2	0,2	175	236	3,8	6,6
14	5,6	2,3	3,2	0,4	233	305	3,2	5,3
15	5,2	2,1	3,1	0,3	349	240	4,5	6,5
16	6,0	2,4	3,6	0,9	110	177	-	-
16*	5,7	2,3	3,4	0,5	82	200	5,0	-

16, 16*: valores del pingüino de Humboldt que permanecía en cautividad en el Zoológico del parque metropolitano San Cristóbal, antes de la captura.

V. BIBLIOGRAFIA

- ARAYA, B. 1983. A preliminary report on the status and distribution of the humboldt penguin (*Spheniscus humboldti*) in Chile. Jean Delacour, ed. Proc. IFCB Symp. on breeding birds in captivity. Los Angeles. p. 125-135.
- BENOIT, I.C.; GLADE, A.C. 1990. Informe: Comisión de servicio al Monumento Natural Isla Cachagua. Corporación Nacional Forestal.
- BOWES, V.A.; JULIAN, R.J.; STIRTZINGER, T. 1989. Comparison of serum biochemical profiles of male Broilers with female Broilers and White Leghorn chickens. Can. J. Vet. Res. 53: 7-11.
- BREAZILE, J.E. 1988. The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. Vet. Clin. North Am. 4 (3): 441-471.
- CHANDRA, A.; SINGH, B.; GUPTA, P.P.; AHUJA, S.P.; SINGH, N. 1985. Clinicopathological, hematological, and biochemical studies in some outbreaks of nephritis in poultry. Avian Dis. 29 (3): 590-600.

CORPORACION NACIONAL FORESTAL. 1988. Estudio de variables ecológicas y biológicas del pingüino de humboldt (*Spheniscus humboldti*). Proyecto conservación y manejo del pingüino de Humboldt en el Parque Nacional Pan de Azúcar.

FLACH, E.J.; STEVENSON, M.F.; HENDERSON, G.M. 1990. Aspergillosis in gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) at Edinburgh Zoo, 1964 to 1988. Vet. Rec. 126 : 81-85.

FIX, A.S.; WATERHOUSE, Ch.; GREINER, E.C.; STOSKOPF, M.K. 1988. Plasmodium relictum as a cause of avian malaria in wild-caught magellanic penguin (*Spheniscus magellanicus*). J. Wildl. Dis. 24 (4): 610-619.

GHEBREMESKEL, K.; WILLIAMS, G.; KEYMER, F.; HORSLEY, D.; GARDNER, D.A. 1989. Plasma chemistry of rockhopper (*Eudyptes crestatus*), magellanic (*Spheniscus magellanicus*) and gentoo (*Pygoscelis papua*) wild penguins in relation to moult. Comp. Biochem. Physiol. 92A (1): 43-47.

- GLADE, A. 1988. Libro rojo de los vertebrados terrestres de Chile. Editor Alfonso Glade. Impresiones Comerciales S.A. 65 p.
- GOODALL, J.; JOHNSON, A.; PHILIPPI, R. 1951. Las aves de Chile, su conocimiento y sus costumbres. Tomo Segundo. Platt Establecimientos Gráficos S.A. Buenos Aires. 443 p.
- GUARD, Ch.L.; MURRISH, D.E. 1975. Effects of temperature on the viscous behavior of blood from antarctic birds and mammals. *Comp. Biochem. Physiol.* **52A** : 287-290.
- HAWKEY, C.; SAMOUR, H.J.; HENDERSON, G.M.; HART, M.G. 1985. Haematological findings in captive gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) with bumblefoot. *Avian Pathol.* **14**: 251-256.
- HAWKEY, C.M.; HORSLEY, D.T.; KEYMER, I.F. 1989. Haematology of wild penguins (*Sphenisciformes*) in the Falkland Islands. *Avian Pathol.* **18** : 495-502.

- HODGES, R.D. 1977. Normal avian (poultry) haematology. In: Comparative clinical haematology. Editado por Archer, R.K. y Jeffcott, L.B. Ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Gran Bretaña. p. 483-517.
- JAIN, N.C. 1986. Schalm's Veterinary Hematology. 4th Ed. Philadelphia, Lea and Febiger. 1221 p.
- KANEKO, J.J. 1989. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th Ed. Academic press, INC. San Diego, California 92101. 932 p.
- LUCAS, A.M.; JAMROZ, C. 1961. Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monograph 25. United States Department of agriculture. Washinton. 271 p.
- McDANIEL L.S.; CHUTE H.L. 1961. Enzyme activity levels in chicken plasma. Am. J. Vet. Res. 22 : 99-103.
- NATT, M.P.; HERRICK, Ch.A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. Poult. Sci. 31 : 735-738.

NICOL, S.C.; MELROSE, W.; STAHEL, C.D. 1988. Haematology and metabolism of the blood of the little penguin, *Eudyptula minor*. Comp. Biochem. Physiol. **89A** (3): 383-386.

PANIGRAHY, B.; ROWE, L.D.; CORRIER, D.E. 1986. Haematological values and changes in blood chemistry in chickens with infectious bursal disease. Res. Vet. Sci. **40**: 86-88.

ROSA, R.; RODRIGUES, E.; BACILA, M. 1989. Blood glucose partition and levels of glycolytic enzymes in erythrocytes and somatic tissues of penguins. Comp. Biochem. Physiol. **92B** (2): 307-311.

RUDOLPH, W.; VILLOUTA, G.; MONTES, G.; CORREA, J.; DONOSO, F.; SEGOVIA, P. 1985. Hematología y bioquímica clínica veterinaria: Manual práctico. 3^{ra}. Ed. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 91 p.

SALLABERRY, M. 1982. El pingüino, sobreviviente del pasado. Naturaleza **1** (2): 12-15.

- SAMOUR, H.J.; JONES, D.M.; PUGSLEY, S.; FITZGERALD, A.K.
1983. Blood sampling technique in penguins
(Spheniciformes). Vet. Rec. **113** (8): 340.
- SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROL, E.J. 1975. Veterinary
Hematology. 3. Ed. Philadelphia, Lea and Febiger.
807 p.
- SCOLARO, J.A. 1987. A model life table for magellanic
penguins (**Spheniscus magellanicus**) at Punta Tombo,
Argentina. J. Field Ornithol. **58**(4): 432-441.
- SCOLARO, J.A. 1989. On a longevity record of the magellanic
penguin. J. Field Ornithol. **61**(4): 377-379.
- SCOLARO, J.A. 1990. Effects of nest density on breeding
success in a colony of magellanic penguin
(**Spheniscus magellanicus**). Colonial Waterbirds.
13(1): 41-49.
- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. 1967. Statistical Methods. The
Iowa State University press. 6th Ed. Ames, Iowa,
U.S.A.. 593 p.

STOSKOPF, M.K.; NEELY, E.; MANGOLD, B. 1983. Avian hematology in clinical practice. Mod. Vet. Prac. Número de Agosto : 629-632.

WILLIAMS, A.J.; SIEGFRIED, W.R.; BURGER, A.E.; BERRUTI, A. 1977. Body composition and energy metabolism of moulting eudyptid penguins. Comp. Biochem. Physiol. 56A: 27-30.

ZINSMEISTER, V.A.P. 1988. Light microscopic study of granulocytes of Pygoscelid penguins (*Pygoscelis adeliae*) of Antarctica. Am. J. Vet. Res. 49 (8): 1402-1406.

ZINSMEISTER, V.A.P.; VANDERHEYDEN, J.N. 1987. Differential leucocyte cell counts from the pygoscelid penguins of Antarctica. J. Wildl. Dis. 23 (3): 521-523.

UNIVERSIDAD DE CHILE-VETERINARIA



3560 1002057408