

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS

VALORES BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS DEL CISNE DE CUELLO NEGRO
(*Cygnus melanocoryphus*, MOLINA 1782), EN UNA POBLACIÓN SILVESTRE, DE
VALDIVIA, CHILE.

Memoria de Título presentada como parte de
los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.

ALVARO ANDRÉS BOETTCHER GALLARDO

VALDIVIA – CHILE

2004

*Dedicada a la memoria de Claudio Ignacio Boettcher
Gallardo (Q.E.D.P), mi hermano y amigo.*

*“Por que eres el agua de la cristalina fuente,
la página del libro que aún nos divierte
el dulce ángel de nuestra mente
y el sentimiento de ayer, hoy y siempre”*

Te Quiero “Ñau Bejer”.



PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Fernando Wittwer M.

Nombre

Firma

PROFESOR COPATROCINANTE

Dr. Roberto Schlatter V.

Nombre

Firma

PROFESOR COLABORADOR

Dr. Josef Kösters G.

Nombre

Firma

PROFESORES CALIFICADORES:

Dr. Jorge Ulloa H.

Nombre

Firma

Dr. Jorge Corea S.

Nombre

Firma

FECHA DE APROBACIÓN

3 de mayo del 2004.

ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
5. RESULTADOS.....	26
6. DISCUSIÓN.....	32
7. BIBLIOGRAFÍA.....	37
8. ANEXOS.....	43
9. AGRADECIMIENTOS.....	62

1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue describir los valores bioquímicos sanguíneos de la población más importante de cisnes de cuello negro de vida silvestre en Sudamérica.

En este estudio se incluyeron 50 cisnes de cuello negro (20 inmaduros, 17 hembras adultas, 13 machos adultos), pertenecientes al sitio Ramsar, Santuario de la Naturaleza "Carlos Anwandter", localizado en el río Cruces, Provincia de Valdivia, Chile (39° 34-49' S; 73°02-18' W). Las muestras de sangre fueron obtenidas a través de punción de la vena metatarsal media. Se almacenaron 2ml de sangre en tubos con heparina y 1ml en tubos con fluoruro de sodio (NaF) por cada cisne, entre los meses de junio a septiembre del 2003. La actividad plasmática de Aspartato aminotransferasa (AST, EC. 2.6.1.1.), Alanino aminotransferasa (ALT, EC 2.6.1.2) y Fosfatasa alcalina (SAP, EC. 3.1.3.1.) fueron determinadas a 37°C. La concentración plasmática de algunos metabolitos también fue determinada: proteínas totales (método Biuret), albúminas (BCG), globulinas (diferencia), colesterol (CHOD-PAD), triglicéridos (GPO-PAP), glucosa (GOD-PAD) y minerales: calcio (Ca) (EEA), fósforo (P) (heptamolibdato) y magnesio (Mg) (EEA). Los límites de referencia fueron establecidos por el método de los promedios ± 2 D.E. (Desviaciones estándar) cuando los valores presentaron distribución normal y usando el percentil 2,5% y 97,5% cuando los valores no presentaron distribución normal.

Se obtuvieron límites de referencia para AST (0,0 - 116,4 U/l); colesterol (1,97 - 4,41 mmol/l); triglicéridos (0,51 - 5,98 mmol/l); glucosa (3,83 - 11,07 mmol/l); proteínas totales (38,3 - 66,3 g/l); albúmina (12,2 - 27,4 g/l); globulina (23,5 - 41,5 g/l); Ca (1,63 - 3,61mmol/l); Mg (0,71 - 1,19 mmol/l). Hubo diferencias entre los cisnes adultos e inmaduros para ALT (11,2 - 75,1 U/l; 29,8 - 97,2 U/l); SAP (180 - 930 U/l; 1650 - 2960 U/l) y P (0,24 - 2,20 mmol/l; 1,16 - 2,99 mmol/l) respectivamente.

Los límites de referencia obtenidos para los cisnes de cuello negro de vida silvestre, fueron similares a los reportados en otros Anseriformes. Los valores fueron similares entre machos y hembras ($p > 0,05$) para todas las variables. Los cisnes inmaduros presentaron valores mayores ($p < 0,05$) de ALT, SAP y P.

Los valores de referencia fueron obtenidos por primera vez para una población de cisnes de cuello negro silvestres pertenecientes al sitio Ramsar, Santuario de la Naturaleza "Carlos Anwandter", Valdivia, Chile.

Palabras clave: bioquímica sanguínea, límites de referencia, Cisne de cuello negro, *Cygnus melanocoryphus*.

2. SUMMARY

The purpose of this study was to describe blood chemistry values of the most important free-ranging Black-necked swans populations in South America

Fifty clinically healthy Black-necked swans (20 immature, 17 females adult and 13 males adult), from the Ramsar Site, Nature Sanctuary “Carlos Anwandter” located in the Cruces River, province of Valdivia, Chile (39° 34-49' S; 73°02-18' W) were included in this study. Blood samples were obtained through puncture of the medial metatarsal vein with heparin (2ml) and sodium fluoride (NaF) (1ml) between June to September 2003. Plasma activity of Aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1.), Alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2) and Alkaline phosphatase (SAP, EC 3.1.3.1.) were determinate at 37°C. Plasma concentrations were also determined for the metabolites: total protein (Biuret), albumin (BCG), globulin (difference), cholesterol (CHOD-PAD), triglycerides (GPO-PAP), glucose (GOD-PAD), and minerals: calcium (Ca) (EAA), magnesium (Mg) (EAA) and phosphorus (P) (heptamolibdate). Reference limits were established with the mean \pm 2 S.D. (Standard deviation) for normal distribution values, and using 2,5% and 97,5% percentiles when normal distribution was not present.

Reference limits were obtained for AST (0.0 – 116.4 U/l); cholesterol (1.97 – 4.41 mmol/l); triglicéridos (0.51 – 5.98 mmol/l); glucosa (3.83 - 11.07 mmol/l); proteínas totales (38.3 - 66.3 g/l); albúmina (12.2 - 27.4 g/l); globulina (23.5 - 41.5 g/l); Ca (1.63 - 3.61mmol/l); Mg (0.71 - 1.19 mmol/l). There were differences between adults and immature swans for ALT (11.2 - 75.1 U/l; 29.8 - 97.2 U/l); SAP (180 – 930 U/l; 1650 – 2960 U/l) y P (0.24 - 2.20 mmol/l; 1.16 - 2.99 mmol/l) respectively.

Reference limits obtained for free-ranging Black-necked swan are similar to the ones reported in Anseriforms. Males and females values were similar ($p>0.05$) for all the variables. Immature swans presented higher values ($p<0.05$) for ALT, SAP and P.

Blood chemistry reference values were obtained for the first time for an important free-ranging Black-necked swan populations from the Ramsar Site, Nature Sanctuary “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Key words: Blood chemistry, Reference limits, Black necked swans, *Cygnus melanocoryphus*.

3. INTRODUCCIÓN

La ciudad de Valdivia tiene el privilegio de ubicarse en una zona rica en aguas continentales, lagos y ríos, ofreciendo una amplia gama de ambientes límnicos a los que se agregan marismas y lagunas resultantes de hundimientos de terreno e inundaciones provocados por el terremoto de Mayo de 1960. Entre éstas encontramos la cuenca hidrográfica del río Cruces reconocida mundialmente por la Convención sobre Humedales¹ como el primer sitio RAMSAR² en Chile, llamado Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, desde 1981. Es un lugar de gran interés ya que cumple funciones ecológicas fundamentales como servir de hábitat a una rica biodiversidad de animales y plantas (Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional Especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas Irán, Ramsar, 1971).

3.1. EL SANTUARIO DE LA NATURALEZA DEL RÍO CRUCES

El Santuario de la Naturaleza está ubicado en la Xª Región, Provincia de Valdivia al norte de la ciudad de Valdivia (39° 35` - 39° 47`, latitud sur y 73° 07` - 73° 16` longitud oeste) a una altitud de 2 a 3 metros sobre el nivel del mar aproximadamente³, cubriendo un área de 4.877 hectáreas (Drouilly, 1976; Schlatter y Mansilla, 1998).

La zona de Valdivia y del Santuario de la Naturaleza son lugares que se caracterizan por presentar precipitaciones que varían entre los 1800 a 2500 mm anuales, con temperaturas ambientales promedio de 12°C aproximadamente. El sector sur del Santuario de la Naturaleza, sector cercano a la ciudad de Valdivia, está bajo la influencia del tipo climático templado lluvioso con influencia mediterránea (Mansilla, 1997; Subiabre y Rojas, 1994). En el sistema de Köppen corresponde al tipo Csb⁴ (San Martín y col., 2000)

El Río Cruces y sus afluentes están constituidos en un 67,5% de plantas acuáticas y palustres autóctonas y en un 32,5% de alóctonas. Siendo *Egeria densa* (Luchecillo) la planta acuática predominante del área cubriendo entre el 99-100% de la pradera sumergida del río (Mansilla, 1997), cubriendo aproximadamente 23 km² (2300 há), (San Martín y col., 2000). La vegetación presente en el Santuario de la Naturaleza cumple un rol importante como hábitat y refugio para las aves (Mansilla, 1997).

¹ "Son humedales las extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de aguas, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros" (Comité Nacional de Humedales de Chile, 2000).

² Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como Hábitat de Aves acuáticas. Ramsar, Irán, 2 febrero del 1971.

³ Comunicación personal: Wladimir Steffen (2004).

⁴ C: clima templado y húmedo. El mes más frío tiene una temperatura media entre los 18 y los -3 ° C y la media del mes más cálido supera los 10 grados; s: presencia de estación seca en verano; b: la temperatura media del mes más cálido es inferior a 22 °C, pero con temperaturas medias de al menos 4 meses superiores a 10 grados.

Estudios de las características hidrológicas del Río Cruces indican que este ecosistema permite clasificarlo como un sistema estuarino “cuerpos de agua donde la desembocadura de un río se abre a un ecosistema marino, con una salinidad intermedia entre dulce y salada, en los que la acción de las mareas es un importante regulador biofísico”, alcanzando las aguas una concentración 1,5 a 4,45 ppm. Se ha observado que el Ph (Potencial de hidrógeno) del río fluctúa entre 7,5 en su parte sur y 6,9 en la parte norte, por otra parte la concentración de oxígeno es levemente superior a 10 mg/l, es pobre en electrolitos y nutrientes como fosfatos, aunque los sedimentos muestran ser ricos en nitrógeno (Mansilla, 1997).

Se ha observado también que presenta elementos contaminantes de origen agrícola con altas concentraciones en los sedimentos del fondo, también se encuentra contaminación biológica de coliformes a pesar de los altos caudales. Su origen es de aguas servidas de los pueblos de Loncoche, San José de la Mariquina y Lanco y de actividades agrícolas. Las aguas a salida del río Cruces se encuentran en mejores condiciones que en los tramos de más arriba (Mansilla, 1997). En cuanto a las temperaturas de las aguas varían durante el año, con temperaturas bajas que alcanzan los 8,5° C en invierno hasta los 25° C en verano (CHILE, 1999).

En la actualidad, los efectos negativos que ha generado el hombre sobre los restantes agentes ecosistémicos ha despertado la inquietud sobre la pérdida irreparable de especies y por consiguiente también de la biodiversidad. Dentro de esta gran biodiversidad tenemos a las aves acuáticas las que son uno de los componentes faunísticos más importantes y notorios de los humedales, interviniendo directa e indirectamente en el funcionamiento de los ecosistemas, razón por la que pueden ser muy útiles como bioindicadoras de los cambios naturales producidos en el ambiente, tales como una sequía o aquellos provocados por efectos antrópicos; disturbios que pueden afectar considerablemente su biología, ocasionando fuertes variaciones poblacionales (Corti, 1996).

Los humedales son biotipos de extrema vulnerabilidad, especialmente por la cantidad de biodiversidad que sustentan. Entre ellas se encuentran las aves acuáticas del Santuario de la Naturaleza, con especies como la Tagua común (*Fulica armillata*), el cuervo de pantano (*Plegadis chihi*) y el cisne cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) (Salazar, 1988), esta última especie aún está clasificada como vulnerable según el “Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile” (CHILE, 1988; Rottman y López-Callejas, 1992; Schlatter, 1998; CHILE, 2000).

Las aves acuáticas que habitan el Santuario de la Naturaleza están representadas por 119 especies aproximadamente, destacándose las familias Ardeidae (garzas y huairavos), Rallidae (taguas y pidenes) y Anatidae (cisnes, gansos y patos) (CHILE, 1999). Entre estas, la especie más vistosa y que constituye un símbolo de este ecosistema es el cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) que ha formado una abundante población en el área (Schlatter y col., 2002). Motivo por el cual se ha perfilado como bioindicador del estado y condición de los humedales; de ahí su importancia como herramienta de investigación y difusión de la naturaleza (Schlatter, 1998). Por estos motivos se han comenzado a realizar y ejecutar programas de manejo, conservación o protección de los recursos naturales renovables, lo que ha impulsado diferentes proyectos de conservación de fauna, pero a pesar de todo este interés,

aún falta información para poder lograr mejores diagnósticos y tratamientos tanto individuales como poblacionales de la fauna silvestre con que contamos.

3.2. EL CISNE DE CUELLO NEGRO

El Cisne de cuello negro *Cygnus melanocoryphus* (Molina 1782) pertenece al Orden de los Anseriformes el que está representado por 2 familias: La Anhimidae y la Anatidae (Meyer, 1970; CHILE, 2000; Kearns, 2003), esta última incluye patos, gansos y cisnes (Meyer, 1970; Humphreys, 1978).

Las crías de cisne de cuello negro presentan un plumaje blanquecino, el que después de 2 meses cambia a un color café grisáceo para finalmente adquirir un color gris con cuello negro en su un estado juvenil, en su estado adulto presentan plumaje blanco con cabeza y cuello negro, carúncula frontal roja y patas rosadas o color carne claro, pico ancho, plano y sin dimorfismo sexual excepto por el tamaño (Agrenjo, 1964; Blake, 1977; Araya y Millie, 1996; Schlatter y col., 2002). Los machos presentan un falo eréctil cubierto con papilas queratinizadas, y sólo se observa si la cloaca es evertida, lo cual es distinguible a muy temprana edad. Las hembras sólo muestran dos estructuras con forma de labios (Humphreys, 1978). El cisne de cuello negro adulto caracteriza por ser de tamaño mediano de aproximadamente de 110 a 125 cms de longitud total (Schlatter, 1998). El peso corporal promedio ejemplares adultos es de 5,3 Kg en el macho y de 4,1 Kg en las hembras (Schlatter, 1998), para ejemplares en cautiverio se han determinado pesos similares (Scott, 1972).



FOTO 1. Ejemplares de cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), adulto (izquierda) e inmaduro (derecha), capturados en el Santuario de la Naturaleza del Río Cruces Valdivia, Chile.

3.2.1. Situación del cisne de cuello negro.

En el mundo existen 6 especies de cisnes, de las cuales 2 se encuentran en Chile, y son: el cisne coscoroba (*Coscoroba coscoroba*) y el cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) (Salazar, 1988). Este último se reproduce en países de Sudamérica entre los que encontramos a Uruguay, Paraguay, sur de Brasil, Argentina, las Islas Malvinas y Chile (Scott, 1972; Schlatter y col., 1991a, Schlatter, 1998).

En Chile, el cisne de cuello negro se puede encontrar desde Coquimbo a Tierra del Fuego, teniendo como límite norte de nidificación regular la Laguna del Peral. Desde Santiago a Llanquihue habita preferentemente lagunas vecinas a la costa, ríos, esteros y lagunas de poca profundidad cuyas aguas se encuentran generalmente detenidas (Drouilly, 1976; CHILE, 2000). La zona de mayor concentración de cisnes, en el Santuario de la Naturaleza, se presenta en el área norte de los sectores Santa María, Bellavista y Fuerte San Luis de Alba (Salazar, 1988).

La necesidad de contar con una información adecuada sobre el estado de las poblaciones de cisnes en el país, fluctuaciones anuales, influencia del medio y otros aspectos de su ecología y comportamiento han motivado a realizar censos nacionales (Drouilly, 1976).

El primer censo de población de cisne cuello negro fue realizado en 1971 y 1972, para todo el territorio nacional (Drouilly, 1976). La institución encargada de efectuar las observaciones en el Santuario de la Naturaleza del Río Cruces desde octubre de 1982 a la fecha ha sido la Corporación Nacional Forestal (CONAF) (Salazar, 1988). Se han detectado fluctuaciones anuales importantes, con bajas notorias en el número de individuos en épocas invernales y picos máximos en verano y principios de otoño, muy similar a lo que ocurrió el verano de 1997 donde se censaron 14.000 ejemplares (Schlatter y col., 1997). En el censo realizado en enero del año 1999 la población total de cisnes fue de 3792 (CHILE, 2000).

Se han observado importantes variaciones en el número de cisnes de cuello negro durante los últimos 15 años con aumentos de la población a fines de verano y bajas importantes en invierno. Además se ha estudiado el efecto del fenómeno de El Niño y La Niña sobre las oscilaciones en el número de cisnes pertenecientes al Río Cruces, observándose que su número aumenta claramente durante el evento de La Niña (años secos) y disminuyen durante el evento de El Niño (años lluviosos). Y se ha llegado a la conclusión de que el cisne de cuello negro es un ave parcialmente migratoria, ya que su número varía de acuerdo a patrones estacionales, moviéndose a lugares más estables (Schlatter, 1998; Schlatter y col., 2002).

La población actual es en parte producto de la protección impuesta en este sitio por CONAF, a la incorporación del área en la Lista Internacional de Sitios de la Conservación RAMSAR, a los censos mensuales de la población, marcaje y control de nidos y a las inmigraciones importante de cisnes que supuestamente han llegado desde Argentina debido a fenómenos de sequía macroregional (Schlatter y col., 1997), pero principalmente a la estabilidad de los humedales lo que es esencial para que las poblaciones puedan alimentarse, establecerse y reproducirse (Schlatter, 1998).

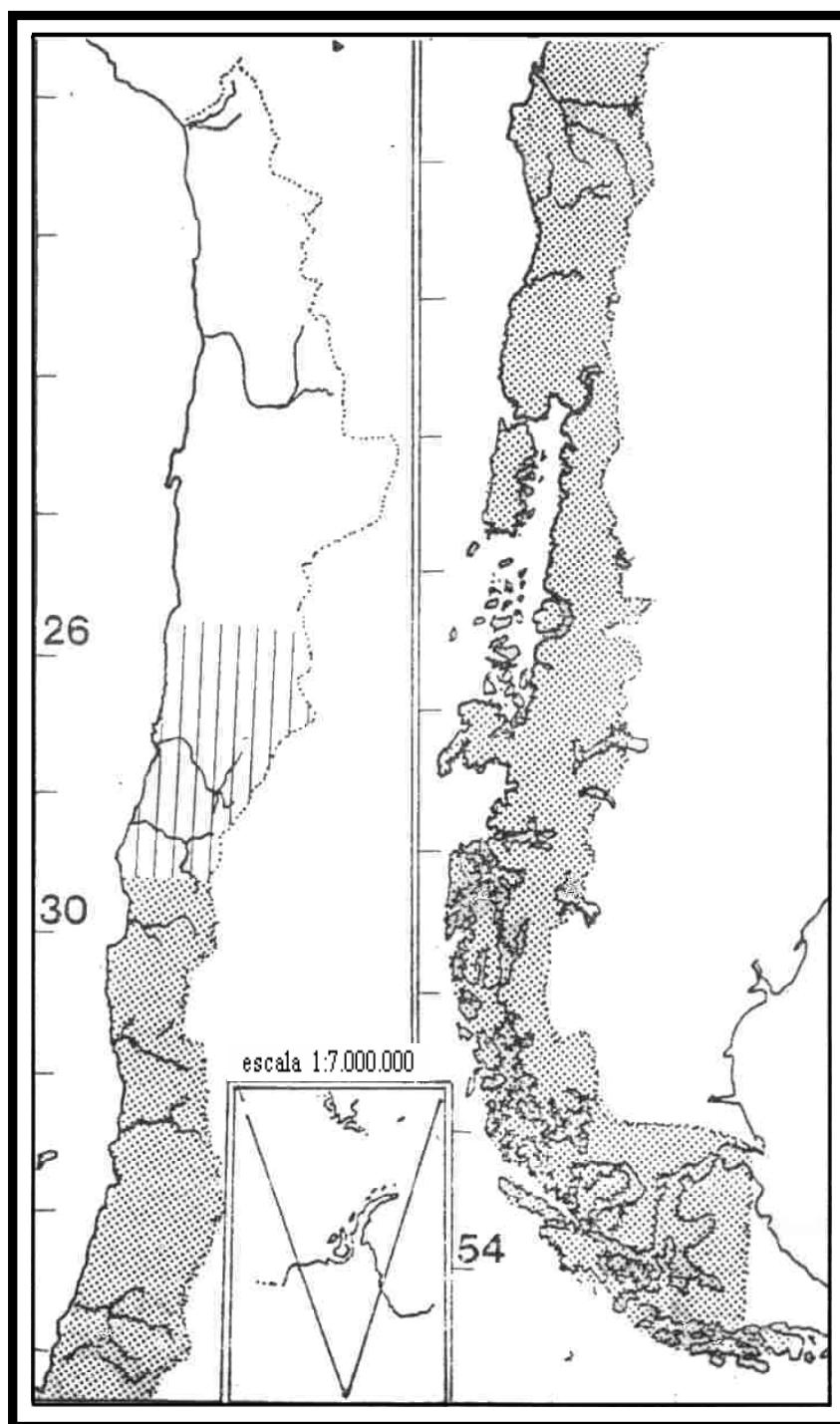


FOTO 2. Ubicación del cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) en Chile. La zona punteada indica el territorio de nidificación regular de los cisnes, extendiéndose ocasionalmente hasta el sur de Atacama y el Archipiélago de Juan Fernández (líneas verticales) (Drouilly, 1976).

3.2.2. Biología del cisne de cuello negro.

La biología reproductiva del cisne de cuello negro ha sido monitoreada en tres lugares de Chile: Laguna El Peral, Laguna Torca y Río Cruces (Schlatter y col., 1991b). Agrenjo (1964) señala que los cisnes están aptos para reproducirse a partir del 3^{er} año de vida.

Se ha observado que el cisne presenta un periodo reproductivo amplio, comenzando con posturas en junio y terminando en enero. La mayoría concentra su actividad de posturas en septiembre y octubre de cada año, a no ser que cambios climáticos (como precipitaciones abundantes), aumenten el nivel del agua en los bañados. El promedio de posturas que presentan los cisnes del río Cruces varía entre los 2,6 a 2,9 huevos siendo 3 huevos lo más frecuente (Schlatter, 1998).

La eclosión ocurre después de un periodo de 36 días de incubación (Salazar, 1988; Schlatter, 1998), y se estima que las crías permanecen junto a sus padres aproximadamente durante cinco meses (Schlatter, 1998). La estación de crianza en el río Cruces comienza en julio y puede terminar en abril del año siguiente. De la población total sólo se reproduce aproximadamente el 16% (Schlatter y Mansilla, 1998) siendo esta la población que permanece estable en este sector, para esto la estabilidad de los humedales es un factor esencial.

El cisne de cuello negro es una especie exclusivamente herbívora (Corti, 1996; Klasing, 1998). Debe consumir grandes cantidades de plantas acuáticas para satisfacer sus necesidades (1,4 Kg por día aproximadamente), debido que estos presentan una baja eficiencia digestiva y a que la materia vegetal que consumen es de baja digestibilidad (17,9% para *Egeria densa*); por lo que dedica la mayor parte del día a esta actividad (Schlatter, 1998; Corti, 1996). Este hábito le otorga el rol de eventual controlador del crecimiento de la pradera acuática, especialmente de *Egeria densa* (Schlatter y col., 1991b; Corti, 1996). *Egeria densa* es el ítem alimenticio principal del cisne de cuello negro, seguida por *Limnobium laevigatum* (hierba guatona), la cual es una planta flotante, ambas presentan un alto porcentaje de agua (95% aproximadamente) y un aporte energético muy bajo, presentando *egeria densa* una energía metabolizable de 2814, 81 Kcal/Kg de materia seca (Corti, 1996).

Los cisnes aumentan el tiempo destinado a la alimentación en otoño en comparación con las otras estaciones, debido a un incremento en el nivel de las aguas (lo que disminuye la disponibilidad de alimento) y a las mayores exigencias energéticas que provoca el inicio del periodo de cortejo y reproductivo (Corti, 1996; Blem, 2000). La muda también provoca una intensa demanda energética, esta ocurre entre los meses de mayo y noviembre (Salazar, 1988; Corti, 1996).

No se dispone de información referente a las características de la composición sanguínea de esta especie, la que es de utilidad no sólo para detectar problemas individuales en aves enfermas, sino que también para el diagnóstico y tratamiento de aves involucradas en alguna catástrofe (Olsen y col., 2002). Además, considerando lo anteriormente mencionado el cisne de cuello negro sería una potencial herramienta bioindicadora de las alteraciones ambientales locales y climáticas regionales y por ende del estado de conservación de estos humedales (Corti, 1996).

3.3. PATOLOGÍA CLÍNICA VETERINARIA

La patología clínica veterinaria es la ciencia que estudia el empleo de análisis de laboratorio en el conocimiento de las enfermedades de los animales (Wittwer y Böhmwald, 1983). Estas pruebas se utilizan para facilitar el diagnóstico de las enfermedades, evaluar el estado de salud o de posible enfermedad, orientar el pronóstico y controlar la respuesta al tratamiento (Lumsden, 2000).

La patología clínica considera la hematología, la que estudia los cambios que experimentan los elementos figurados de la sangre, así como también la bioquímica clínica que estudia la composición de diversos tejidos en los animales, especialmente del plasma sanguíneo. Como los signos clínicos en las aves son menos específicos en comparación con otros animales de compañía, es recomendable apoyar el diagnóstico sobre métodos de investigación clínica, como análisis hematológicos y bioquímicos (Scope y col., 2000), como también patológicos y microbiológicos.

Se han realizado estudios bioquímicos en diversas familias de aves como Anseriformes (Gee y col., 1981; Perry y col., 1986; Carpenter y col., 2001; Olsen y col., 2002), Ciconiiformes (Averbeck, 1992; Padilla y col., 2001), Columbiformes (Scope y col., 2002), Falconiformes (Dell'omo y Cavallina, 1996; Toro y col., 1997), Galliformes (Balasch y col., 1973; Lavin y col., 1992), Phoenicopteriformes (Peinado y col., 1992), Psittaciformes (Roskopf y col., 1982; Stoskopf y col., 1983; Scope y col., 2000), Sphenisciformes (Villouta y col., 1997), pero la mayoría en aves en cautiverio. No se encontró información en la literatura consultada referente a bioquímica sanguínea en cisnes de cuello negro silvestres en Chile.

3.3.1. Bioquímica clínica sanguínea.

Dentro de la gran variedad de pruebas de laboratorio que utilizamos para guiarnos en el diagnóstico encontramos a la bioquímica clínica sanguínea (Else y Kelly, 2000), la cual estudia la composición química de la sangre así como otros tejidos y fluidos de los animales como una herramienta para orientar el diagnóstico, pronóstico y conocimiento de la patogenia de muchas enfermedades. Cabe señalar que de los diversos componentes químicos del plasma como glucosa, urea, lípidos, proteínas, enzimas, vitaminas y hormonas sólo unos pocos tienen utilidad desde el punto de vista de la patología clínica y sólo son de interés aquellos constituyentes que su determinación es simple, segura y económica y los valores obtenidos pueden ser interpretados de acuerdo a conocimientos científicos sobre los motivos que pueden producir su aumento o disminución (Wittwer y Böhmwald, 1983).

3.3.1.1 Obtención de muestras en las aves.

En Anseriformes se puede obtener muestras de la vena yugular derecha, braquial o metatarsal medial. La vena metatarsal medial es muy utilizada, se usa generalmente para tomar pequeños volúmenes de sangre en aves grandes (Kearns, 2003). Lumeij (1997) señala que en Anseriformes como patos y gansos el sitio preferido para obtener muestras de sangre es el seno venoso occipital.

Las aves pueden tolerar mejor las pérdidas de sangre que los mamíferos. Esto se debe a que tienen mayor capacidad para movilizar fluidos extravasculares. La cantidad de sangre que puede ser extraída sin provocar efectos perjudiciales es del 3% del peso corporal en patos y palomas, 2% en pollos y 1% en cuervos y faisanes. Cuando se utiliza la bioquímica plasmática con fines diagnósticos en aves, la cantidad máxima (límite seguro) de sangre que se debe extraer es el 1% del peso corporal de esta (Lumeij, 1997). Es por esta razón que las pruebas bioquímicas sanguíneas no son aplicables a todas las especies de aves, si se considera los diversos tamaños.

3.3.1.2. Enzimas sanguíneas. Las enzimas son proteínas de origen celular que actúan catalizando reacciones químicas específicas en el organismo. En el animal sano, las enzimas celulares tienen una actividad que oscila dentro de límites definidos. En cambio, hay muchas enfermedades orgánicas en las que está aumentada la salida de enzimas desde las células, bien por aumento de permeabilidad de las membranas o por disolución de la estructura celular. Así se originan modificaciones de la actividad enzimática en el plasma sanguíneo de indudable valor diagnóstico (Wittwer y Böhmwald, 1983).

La distribución de las enzimas varía entre órganos y especies animales y generalmente actividades enzimáticas incrementadas son un indicador de daños recientes de algunos órganos, más que de la disminución en su función (Lumeij, 1997).

El incremento de la actividad plasmática de una enzima celular en particular también depende de factores tales como la tasa de liberación, tasa de producción, y tasa de eliminación desde el plasma. Las enzimas citoplasmáticas podrían ser liberadas tempranamente en una degeneración celular, mientras que las enzimas mitocondriales pueden ser liberadas después de un daño celular avanzado (Lumeij, 1997).

3.3.1.2.1. Aspartato-aminotransferasa (AST) y Alanina-aminotransferasa (ALT). Estas enzimas usualmente incrementan en aves clínicamente enfermas, especialmente AST, siendo esta la más utilizada para el diagnóstico en medicina veterinaria (Peinado y col., 1992).

Incrementos en la actividad plasmática de algunas enzimas hepáticas pueden indicar daño celular reciente, pero no dan información sobre la función hepática, ya que la actividad plasmática de estas enzimas puede estar dentro de los límites normales en aves que presentan enfermedades hepáticas crónicas (Lumeij, 1997).

La AST es una enzima que se ubica en la mitocondria y el citosol de la mayoría de las células (hepáticas, musculares, renales, neuronales, eritrocitos, esplénicas, intestinales y pulmonares) (Stoskopf y col., 1983) y en el plasma, por ello no es una enzima específica, pero su determinación en conjunto con otras, se emplea como índice de alteración de células hepáticas y musculares (Wittwer y Böhmwald, 1983), siendo un sensible marcador de daño tisular (Kramer y Hoffmann, 1997), pero no ha sido posible relacionar la actividad plasmática de esta enzima con alguna enfermedad específica (Stoskopf y col., 1983).

Estudios en algunos Columbiformes y Psittaciformes han demostrado que frente a daño muscular aumenta la actividad plasmática de creatinquinasa (CK) principalmente, seguida por

deshidrogenasa láctica (LDH), AST y ALT, por esto se debe distinguir entre la ALT de origen muscular y la de origen hepático (Kramer y Hoffmann, 1997).

Se debe tener presente que las inyecciones intramusculares provocan incrementos en la actividad plasmática de AST y ALT, por lo tanto los resultados deben ser interpretados con precaución, ya que para confirmar la presencia de daño hepático se debe incluir algún constituyente plasmático que entregue información específica sobre la función hepática, por ejemplo ácidos biliares totales (Lumeij, 1997).

Tabla 1. Especificidad y sensibilidad de ácidos biliares y enzimas plasmáticas en enfermedades hepáticas y musculares basados en estudios experimentales en palomas (Lumeij, 1997).

Variable	Enfermedad Hepática		Enfermedad Muscular	
	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad
Ácidos biliares	+++	+++	-	-
GGT	+++	+	-	-
AST	-	+++	-	+++
ALT	-	++	-	+++
FA	-	-	-	-
CK	-	-	+++	+++
LDH	-	+	-	+
GLDH	+++	(+)	-	-

GGT: gama glutamil transferasa.

GLDH: glutamato deshidrogenasa.

Como se puede apreciar en la Tabla 1 la actividad plasmática de AST y la concentración de ácidos biliares son los indicadores más sensibles de enfermedad hepática en palomas mensajeras (*Columba livia domestica*), seguido por ALT, GGT y LDH. Las enzimas CK y GLDH son los indicadores más específicos de daño en células musculares y hepáticas respectivamente, pero tienen vidas medias menores que AST y ALT, enzimas que no son indicadores específicos de daño para ambos órganos (Lumeij, 1997).

3.3.1.2.2. Fosfatasa alcalina (SAP). La SAP es una glucoproteína, que ha sido utilizada como un indicador de daño hepático desde 1920. Se encuentra en intestino, riñón, hígado y huesos (Kramer y Hoffmann, 1997), aunque se ubica principalmente en tejido óseo y hepático (Wittwer y Böhmwald, 1983).

En aves, valores elevados de la actividad plasmática de SAP están relacionados con un incremento de la actividad celular en los diversos órganos y tejidos y particularmente en los huesos (Bell y Sturkie, 1968), pudiendo estar asociadas con un incremento en la actividad osteoblástica, tales como crecimiento esquelético, hiperparatiroidismo nutricional secundario, raquitismo, reparación de fracturas por osteomielitis, como también puede estar relacionado

con una ovulación inminente (postura de huevos) (Olsen y col., 2002), hiperparatiroidismo primario, aspergilosis, clamidiosis (Stoskopf y col., 1983), enteritis y enfermedades hepáticas (Carpenter y col., 2001). Aunque Lumeij (1997) señala que el incremento de la fosfatasa alcalina asociada con enfermedad hepática es raro en aves.

En animales jóvenes en crecimiento la SAP ósea es la forma predominante de SAP en el suero, la que disminuye cuando el animal madura y se cierran las epífisis óseas (Kramer y Hoffmann, 1997).

Todos los autores están de acuerdo que la actividad plasmática de SAP en la sangre es más bajo en las aves adultas que en las aves en crecimiento, pero no esta clara su relación con la producción de huevos, aunque se sabe que precediendo al comienzo del periodo de postura existe una elevación en la actividad fosfatásica y que su actividad cae cuando no está en puesta, demostrado por Bell y Sturkie (1968) en Galliformes.

Por otra parte Bell y Sturkie (1968) observaron que la actividad plasmática de SAP es significativamente elevada en Galliformes con dietas deficientes en calcio. Stoskopf y col., (1983) señalan que el aumento en actividad de la fosfatasa alcalina ha sido asociada a las fases de crecimiento y postura, rickettsias, hiperparatiroidismo primario, reparación de fracturas, osteomielitis y aspergilosis.

3.3.1.3. Lípidos sanguíneos. Las fracciones lipídicas del plasma sanguíneo aviar constituyen una mezcla compleja y han sido clasificadas como ácidos grasos libres, grasas neutras, fosfolípidos y ésteres de colesterol (Bell y Sturkie, 1968).

3.3.1.3.1. Colesterol. El colesterol es el esteroide más común en los tejidos corporales y actúa como precursor en la síntesis de hormonas esteroideas (Wells y Gilbert, 1971; Duncan, 2000) y de sales biliares, y como principal componente estructural de las membranas celulares y de las vainas de mielina (Duncan, 2000).

El colesterol circula en el plasma en forma libre y esterificada, esta última forma es producto del metabolismo hepático. Comúnmente se determina la suma de ambos o colesterol total (Wittwer y Böhmwald, 1983). La mayor parte del colesterol se sintetiza en el hígado, el resto procede de la dieta. El colesterol excedente se elimina a través de la bilis y sufre recirculación enterohepática (Duncan, 2000; Hall, 2000).

La utilidad de la determinación del colesterol como marcador de enfermedad hepática es limitada debido a que su concentración puede disminuir, aumentar o permanecer normal dependiendo del tipo de enfermedad hepática y de la ingesta diaria de colesterol (Hall, 2000).

Las concentraciones de las fracciones de lípidos en la sangre están influenciados por el estado fisiológico y nutritivo del ave. En algunos Galliformes, Anseriformes y Columbiformes se ha demostrado ampliamente la elevación de los lípidos plasmáticos al aparecer la madurez sexual en la hembra, esto se debe a la secreción de estrógenos por el ovario. Los valores de colesterol no parecen ser influenciados por los estrógenos endógenos, ya que no son consistentes las diferencias encontradas entre los machos adultos y las hembras en puesta o en descanso. Sin embargo los estrógenos exógenos incrementan el colesterol plasmático (Bell y

Sturkie, 1968). Por otra parte Stoskopf y col., (1983) indican que las concentraciones de colesterol aumentan en primavera y que disminuyen previo a la estación de migraciones, y señala también que la muda provoca disminución en las concentraciones de este.

El efecto del colesterol de la dieta sobre el colesterol plasmático está influenciado por la cantidad de las grasas saturadas e insaturadas de la dieta. Un exceso de colesterol añadido a la dieta de gallinas incrementa particularmente el colesterol plasmático, así como otros lípidos (Bell y Sturkie, 1968). Las dietas carnívoras aumentan las concentraciones de colesterol plasmático (Carpenter y col., 2001). Perry y col., (1986) señala que las concentraciones de colesterol son mayores cuando se dan dietas altas en energía (altas en aceite de maíz), y son menores con dietas ricas en proteínas. Por otra parte el colesterol en aves incrementa con la edad y esto puede estar relacionado con un incremento en la síntesis hepática de este lípido (Olsen y col., 2002).

Se señala que en los mamíferos una hipocolesterolemia podría interpretarse como consecuencia de hígado graso, anemia, inanición e hipertiroidismo, y una hipercolesterolemia como consecuencia de nefrosis o hipotiroidismo (Wittwer y Böhmwald, 1983). Mientras que Stoskopf y col., (1983) indican que cambios en la concentración de colesterol plasmático en aves no tienen relación con enfermedad en estas.

3.3.1.3.2. Triglicéridos. La reserva de energía aviar es sobre todo almacenada como lípidos, específicamente triglicéridos (Hazelwood, 2000). Los triglicéridos son los lípidos abundantes en el organismo y su almacenamiento en el tejido adiposo supone una reserva esencial de energía química para las necesidades de los tejidos.

El hígado tiene una alta capacidad para sintetizar ácidos grasos desde fuentes no lipídicas, proceso llamado “*novo síntesis*”. El tejido adiposo, intestino, piel y tejido esquelético también sintetizan ácidos grasos y la contribución relativa de esos tejidos es dependiente de la especie y la edad, por otra parte el hígado es particularmente activo en hembras adultas en producción de huevos (Klasing, 1998).

Durante la maduración el depósito de grasa es intenso, así como también en la preparación para la migración, inviernos excesivos en climas templados y en hembras antes de la crianza (Klasing, 1998).

Los metabolitos lipídicos del plasma pueden ser buenos indicadores de cambios en la masa corporal de las aves migratorias, como por ejemplo los triglicéridos (Guglielmo y col., 2001).

Se ha observado que las concentraciones de triglicéridos son más bajas durante el invierno y más altas durante la primavera y el otoño cuando las aves están aumentando rápidamente su masa en las áreas de escala migratoria (Guglielmo y col., 2001).

La hipotrigliceridemia no parece estar relacionada indefectiblemente a una enfermedad específica, aunque ha sido descrita en varios casos de enfermedad hepática aguda y crónica. En las especies menores la hipotrigliceridemia se ha descrito en varios casos de insuficiencia hepática aguda y crónica (Duncan, 2000). Guglielmo y col., (2001) reportaron variaciones en

las concentraciones plasmáticas de triglicéridos en el *Calidris mauri*, las que disminuyeron rápidamente luego de la captura (2–20 min).

3.3.1.4. Glucosa. Se sabe desde 1901 que el azúcar sanguíneo de las aves está en forma de D-glucosa, como en los mamíferos, pero que sus concentraciones son generalmente más altas que en estos (Bell y Sturkie, 1968). En el humano el hígado hace disponible en el plasma aproximadamente el 70 a 75 % de la glucosa, cifra que es levemente mayor en las aves (Hazelwood, 2000).

La principal función de todos los carbohidratos, es suministrar una fuente de energía inmediata al organismo del huésped, y por otra parte en tiempos de necesidad la glucosa es fácilmente sintetizada de fuentes no hidrocarbonadas, como las grasas y las proteínas. Si hay concentraciones normales de glicemia, la glucosa plasmática se transforma en glucógeno en el hígado y músculo esquelético principalmente (Hazelwood, 1968; Hazelwood, 2000).

Los tejidos que controlan el metabolismo de los hidratos de carbono en aves y en mamíferos adultos, incluyen al páncreas (insulina, glucagón y la somatostatina), la corteza adrenal (glucocorticoides), la médula adrenal (catecolaminas), tiroides y secreciones hipofisarias, particularmente adenocorticotrofina (ACTH), prolactina (LTH) y la hormona del crecimiento (GH) (Hazelwood, 1968).

Aunque no se han asociado cambios en las concentraciones de glucosa en la sangre a la muda y la postura, se sabe que hembras sexualmente maduras tienden a tener concentraciones mayores que los machos (Stoskopf y col., 1983). Existen variaciones relacionadas con el estado fisiológico, pero al parecer la cantidad de glucosa no está influenciada por el estado reproductivo, ya que no se han observado diferencias entre gallinas domésticas en puesta y en descanso (Bell y Sturkie, 1968). Debemos considerar que las actividades reproductivas representan un costo energético importante para las aves, entre las que encontramos la incubación, la defensa de territorio, el cortejo, la crianza (cuidados y alimentación) y la muda (Hazelwood, 2000).

Tanto el ayuno como el ejercicio incrementan la degradación del glucógeno, para mantener la glicemia dentro de los valores normales (Hazelwood, 1968), por ejemplo el metabolismo de la glucosa en aves en ayuno es de aproximadamente el doble que en mamíferos en ayuno (Hazelwood, 2000).

El estrés físico causa hiperglicemia por aumento en la secreción de catecolaminas, epinefrina y glucoirticoides permitiendo el incremento de la glucosa en la sangre por inducir al quiebre del glucógeno a glucosa en varias especies de aves. Se han encontrado aumentos en las concentraciones de glucosa sobre un 10% en paloma mensajera (*Columba livia domestica*), después de ser sometidas al estrés propio del manejo y manipulación (Scope y col., 2002). Hazelwood (2000), señala que la epinefrina, los ácidos grasos y la hormona secretina parecen no tener un efecto significativo sobre la secreción de insulina.

En aves, alteraciones del metabolismo de los carbohidratos se presentan en la diabetes mellitus espontánea, quimiotóxicos pancreáticos, extirpación quirúrgica del páncreas, agentes pancreatropicos (anticuerpos anti-diabéticos), enfermedades infecciosas (Psitacosis,

NewCastle e Influenza Aviar) y la acción de otras hormonas aviares (hormona del crecimiento y prolactina) (Hazelwood, 2000), factores que aumentan las concentraciones de glucosa. Disminuciones en las concentraciones de glucosa se producen por disfunción hepática, septicemias, neoplasias, aspergilosis (Carpenter y col., 2001).

Se debe considerar que los valores de glicemia también pueden variar “in vitro”, debido a que en la muestra de sangre continúan produciéndose cambios de los constituyentes bioquímicos. El metabolismo más importante que se produce in vitro es la glicólisis, ya que se pierde aproximadamente un 10% de la glucosa por hora en la sangre almacenada; por lo que toda muestra para glicemia debe ser obtenida con NaF (2 mg/ml), por ser inhibidor de la actividad enzimática (Wittwer y Böhmwald, 1983).

Los rangos de referencia de glicemia para las aves fluctúan entre los 11-25 mmol/l (Lumeij, 1997), valores superiores a los observados en mamíferos (Bell y Sturkie, 1968), y que varían entre los 3–6 mmol/l para las diferentes especies domésticas (Wittwer y Böhmwald, 1983).

3.3.1.5. Proteínas plasmáticas. El suero sanguíneo de las aves, como el de otros vertebrados, contiene una variedad de proteínas, que se agrupan en dos grandes categorías: la albúmina y las globulinas (Bell y Sturkie 1968; Wittwer y Böhmwald, 1983) En el plasma de las aves también está presente el fibrinógeno que no se comporta igual al de los mamíferos (Bell y Sturkie, 1968).

Las funciones de las proteínas son muchas y variadas, pero las más importantes son las referentes al mantenimiento de la presión osmótica del plasma, el transporte de sustancias a través del cuerpo, la inmunidad humoral, la acción tampón y la regulación enzimática (Bell y Sturkie, 1968; Wittwer y Böhmwald, 1983; Duncan, 2000).

Wittwer y Böhmwald, (1983) señalan que en los mamíferos las proteínas circulantes se sintetizan principalmente en el hígado, aunque también contribuyen en su producción las células plasmáticas. Cuantitativamente la proteína más importante es la albúmina y constituye entre el 40 y el 60% de las proteínas plasmáticas. En las aves esta es también la mayor fracción proteica (Lumeij, 1997).

La albúmina es sintetizada únicamente en el hígado, y por ello, la concentración de proteínas plasmáticas sirve como indicador de función hepática (Duncan, 2000). En condiciones inflamatorias agudas y crónicas puede ocurrir un aumento en las proteínas totales por elevación en la fracción de las globulinas. A menudo la concentración de albúminas está disminuidas en estas situaciones (Lumeij, 1997).

La edad, cambios estacionales, dieta y estado de cautividad tienen un efecto sobre las proteínas plasmáticas, por lo tanto se debe considerar el estado fisiológico o condición de las aves al momento del muestreo (Peinado y col., 1992).

En aves hembras, un incremento considerable en las proteínas plasmáticas se presenta antes del periodo de postura debido a una inducción de estrógenos los que incrementan la producción de la fracción de las globulinas (Bell y Sturkie, 1968; Lumeij, 1997). Por otra parte

se ha sugerido que el exceso de tiroxina inhibe la síntesis hepática de proteínas plasmáticas ó incrementaría la destrucción oxidativa de las mismas (Bell y Sturkie, 1968).

Se sabe que la cantidad de proteína que se puede movilizar y almacenar en la yema y clara de un solo huevo es equivalente a la cantidad total de proteínas circulantes de la gallina. Esto sugiere que la velocidad de formación y de recambio de las proteínas plasmáticas es por demás rápida en las gallinas en puesta ya que el nivel de proteínas plasmáticas permanece casi constante (Bell y Sturkie, 1968). Stoskopf y col., (1983) señalan que las concentraciones que valores bajos de proteínas totales se atribuyen frecuentemente a desnutrición, pero también ocurre en infecciones agudas y en hemorragias. Incrementos se presentan durante la postura de huevos, deshidratación e infecciones crónicas (tuberculosis aviar).

Las proteínas plasmáticas son un importante constituyente complementario para el diagnóstico de enfermedades gastrointestinales, hepáticas, renales e infecciosas (Lumeij, 1997; Wittwer y Böhmwald, 1983). La determinación de las proteínas plasmáticas raramente conduce a un diagnóstico específico, pero ayuda al clínico a evaluar la naturaleza, severidad y progreso de una enfermedad (Lumeij, 1997).

Las causas de hipoalbuminemia se pueden separar según si incrementa la pérdida de ellas (por vía glomerular, enteropatías, lesiones cutáneas, hemorragias externas) o por disminución de la producción (por insuficiencia hepática, mala alimentación, mala digestión, mala absorción), y disminución por secuestro (derrames cavitarios). La hemoconcentración secundaria a deshidratación y la reducción del líquido circulante, producen un aumento en la concentración séricas de albúmina (Duncan, 2000).

Al momento de interpretar los resultados de las muestras se debe tener presente que la concentración de proteínas totales en plasma es mayor que en el suero, porque el anterior contiene fibrinógeno (Lumeij, 1997).

3.3.1.6. Electrolitos plasmáticos. El plasma contiene macroelementos tales como: calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cloro y oligoelementos: cobre, cobalto, yodo, hierro, selenio y manganeso, cumpliendo ellos variadas funciones en diversos procesos metabólicos (Wittwer y Böhmwald, 1983).

3.3.1.6.1. Calcio (Ca). En la sangre el Ca se encuentra en tres formas distintas: el calcio unido a las proteínas, el calcio quelado y el calcio ionizado. Este último es la forma biológicamente activa y supone alrededor del 50% del Ca plasmático total (Johnson, 2000). El Ca inorgánico tiene un papel esencial en la regulación de las reacciones enzimáticas, la coagulación sanguínea, la función muscular, la actividad neural y la permeabilidad de la membrana celular (Duncan, 2000).

El metabolismo del calcio en las aves está bajo el control de la hormona paratiroidea (PTH), y el 1-25 dihidroxicalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ metabolito activo de la vitamina D_3) como elementos hipercalcemiantes, y la calcitonina (TCH) como hipocalcemiante, mecanismo homeostático que les permite mantener una concentración estable de Ca sanguíneo. Se debe considerar que las prostaglandinas, los esteroides reproductivos y algunas otras hormonas también ejercen una influencia significativa (Taylor y col., 1971).

Normalmente el riñón de las aves reabsorbe más del 98% del Ca filtrado, por una vía que es aparentemente saturable y normalmente opera cerca de su máxima capacidad (Goldstein y Skadhauge, 2000).

Las aves en ovulación y durante la deposición activa de la cáscara, movilizan 2 a 3 veces más Ca sanguíneo que las hembras sexualmente inmaduras, movilizándose una cantidad equivalente al calcio plasmático circulante total, sin embargo las concentraciones de calcio no varían apreciablemente durante el ciclo reproductivo. La elevación que acompaña al estado de postura se considera que está relacionada con el aumento de los estrógenos endógenos, que estimulan la aparición en el plasma de fosfoproteínas con gran capacidad de fijación del calcio (Bell y Sturkie, 1968). Los tratamientos con estrógenos incrementan el calcio plasmático total, en parte por la estimulación de la producción de proteínas sanguíneas ligadoras de calcio (Lumeij, 1997; Johnson, 2000).

Una disminución de Ca y/o un exceso de fósforo en la dieta pueden provocar una deficiencia de Ca plasmático; así como también dietas deficientes en vitamina D pueden provocar hipocalcemia secundaria, por disminución en la absorción de calcio y formación del hueso (Klasing, 1998).

La concentración de calcio total está influenciado por la concentración de proteínas plasmáticas, lo que fue demostrado en 70 papagayos grises africanos sanos en donde se observó una correlación linear significativa entre el Ca total y la concentración de albúminas en el plasma (Lumeij, 1997).

Las concentraciones de Ca plasmático en animales jóvenes y adultos debería ser similar (Toro y col., 1997), Valores anormales en la calcemia sólo se presentan en situaciones extremas (Wittwer y Böhmwald, 1983). Una disminución del calcio en el suero puede reflejar falla renal. Incrementos se producen aproximadamente 2 semanas antes de comenzar las posturas (Stoskopf y col., 1983).

3.3.1.6.2. Fósforo (P). Alrededor del 85% del fósforo de un ave se encuentra en el hueso. El fósforo restante, lo podemos encontrar en fosfolípidos, ácidos nucleicos y como parte de moléculas importantes en el metabolismo intermediario (Klasing, 1998).

El fósforo plasmático se encuentra en forma de fosfato inorgánico (Pi), fosfolípidos y ésteres orgánicos. La determinación de la fracción inorgánica tiene utilidad clínica para valorar el balance de este mineral en el organismo. La concentración sérica es variable siendo influenciada principalmente por la dieta, además de la vitamina D, PTH y funcionalidad renal (Wittwer y Böhmwald, 1983).

La concentración plasmática del Pi parece estar fundamentalmente bajo el control del riñón. Este órgano es estimulado por la PTH inhibiendo la reabsorción de fosfatos y estimulando su secreción (Bell y Sturkie, 1968; Goldstein y Skadhauge, 2000). En pollos aproximadamente el 60% de la carga fosfato filtrado es eliminado en la orina.

Cuando la dieta es adecuada en calcio y fósforo hay una secreción de fosfatos en el duodeno, sin embargo cuando la dieta es deficiente en fósforo hay una absorción dentro del yeyuno (Denbow, 2000).

Se debe tener presente que los requerimientos de P son mayores en las aves en crecimiento. En pollos en etapa de crecimiento, una deficiencia moderada de P provoca pérdida del apetito, menor crecimiento y menor mineralización del hueso. Una deficiencia más severa causa debilidad y eventualmente la muerte. Las deficiencias de P en la mayoría de las aves silvestres son raras, por el alto contenido de P en fuentes alimentarias vegetales y animales (Klasing, 1998).

El Ca y P de la dieta interactúan durante la absorción, el metabolismo y la excreción. Excesos de Ca en la dieta disminuye la absorción de P. Una relación en la dieta entre 1,4:1 y 4:1 son bien toleradas si la vitamina D es adecuada. La relación de Ca : P de los huesos es levemente mayor que 2:1 y cambia poco durante el tiempo (Klasing, 1998).

Incrementos de fosfatos se producen aproximadamente 2 semanas antes de comenzar las posturas (Stoskopf y col., 1983). La concentración e Pi plasmático aumenta durante la calcificación de la cáscara, esto se debe a que cuando el mineral del hueso se moviliza durante la calcificación de la cáscara, la velocidad a la que el calcio se retira de la circulación por el útero es relativamente mayor que la velocidad a la que se excreta el P por los riñones (Bell y Sturkie, 1968).

3.3.1.6.3. Magnesio (Mg). El magnesio se encuentra en el plasma en forma libre o iónica y una parte agregada a proteínas. Actúa como un cofactor o un activador de muchas enzimas críticas, incluyendo las reacciones que involucran al ATP que energiza todas las mayores vías metabólicas (Klasing, 1998).

Los iones de Mg en la sangre son utilizados por todas de las células del cuerpo, y como el potasio, tienen una alta gradiente de concentración de intracelular a extracelular. Si el magnesio supera levemente las concentraciones plasmáticas normales, este es almacenado en el hueso; si los excesos son aún mayores, es eliminado por vía renal (Klasing, 1998).

Su concentración está fuertemente influenciada por la dieta, mientras que la vitamina D y la PTH no actúan sobre ella (Wittwer y Böhmwald, 1983). Factores dietarios, tales como fosfatos altos o grasas, disminuyen la ionización del magnesio desde sales o complejos inorgánicos, deteriorando su biodisponibilidad (Klasing, 1998), pero la razón más probable de una deficiencia de magnesio es que haya una alta concentración de Ca y P en la dieta. Por otra parte Bell y Sturkie (1968) indican que ambas fracciones del Mg pueden disminuir cuando la gallina está deponiendo la cáscara al huevo.

Se debe considerar que la exposición del plasma a la atmósfera produce una pérdida de CO₂ y elevación del Ph y una concomitante caída del Ca y Mg ultrafiltrable (Bell y Sturkie, 1968).

3.3.2. Límites de referencia.

Se ha propuesto el término “límites de referencia” como el mejor para *definir límites superior e inferior para el 95% de los animales sanos de una población*. Un término alternativo es el de *intervalos de referencia* (Lumsden, 2000).

Los límites de referencia se establecen determinando la concentración del elemento en estudio, en un grupo de animales clínicamente sanos y representativos de la población a la cual queremos después extrapolar los resultados. Para esto último, hay que tomar en cuenta las causas fisiológicas que pueden producir variaciones, como el sexo, ayuno, edad, ejercicio (Wittwer y Böhmwald, 1983).

Se debe tener presente que los límites de referencia se originan normalmente a partir de animales sanos y se usan para obtener los límites en una población determinada (Lumsden, 2000). El incluir animales enfermos podría afectar los límites de referencia obtenidos para una población y por esto es importante evitar la presencia de estos animales. Se entiende por enfermedad al deterioro de las funciones normales del cuerpo, provocado por deficiencia de un nutriente vital, ingestión de una sustancia tóxica, lesión física, estrés o como consecuencia de la acción dañina por patógenos infecciosos o parásitos (Zander y col., 2000). Se debe tener presente que existen varias enfermedades en las aves que provocan signos clínicos poco específicos como, crecimiento disparejo o retardado, desarrollo de plumas erizadas, disminución en la producción de huevos y menor incubabilidad (Austic y Scott, 2000).

En la práctica el tamaño de la muestra usualmente es pequeño, Farver (1997) señala que el número mínimo de individuos que se puede utilizar para la determinación de rangos de referencia por el método de la desviación estándar es de 40.

Los valores de referencia deben ser determinados según si presentan o no distribución normal, ya que si no se considera esto pueden cometerse errores como incluir valores que no están dentro de lo normal para la población, o por el contrario, excluir ciertos valores normales (Bermes, 1976).

Para valores de una población que presentan una distribución Gaussiana el método más empleado es el de los promedios, y corresponde al promedio \pm la desviación estándar obtenido de una población de animales, con lo que se puede estimar que porcentaje de la población está dentro de determinados valores, por ejemplo el promedio \pm 2 desviaciones estándar es igual al 95%, este porcentaje indica la confianza que estos valores estén dentro de lo esperado como normal (Wittwer y Böhmwald, 1983).

La estimación de los valores de referencia por el método de los promedios, sólo es aceptable si la distribución es normal o aproximada a una distribución normal. En la realidad, muchos datos biológicos no siguen esta distribución, y utilizar este método puede ser en esos casos erróneo (Bermes, 1976). El método que se utiliza para estimar los valores de referencia en estos casos, es el de los percentiles. Este método es interesante debido a que es un reflejo de la distribución involucrada, en donde el percentil 97,5 es estimado como el valor del analito que correspondiente a la $(n+1) * 0,975$ observación en orden ascendente de los valores de los

analitos de una muestra de n animales normales. El percentil 2,5 es el valor del analito correspondiente a la observación $(n+1) * 0,025$ (Farver, 1997).

Olsen y col., (2002) señalan que no existen rangos normales de referencia disponibles para muchas aves silvestres, y que esta información podría ser muy importante en situaciones imprevistas. Los antecedentes expuestos nos señalan la conveniencia de disponer de límites de referencia para los principales constituyentes bioquímicos sanguíneos del cisne de cuello negro, que permitan además de lo expuesto anteriormente, servir como base para futuros estudios en esta especie.

La siguiente investigación es un trabajo descriptivo que tiene como objetivo general establecer límites de referencia para componentes bioquímicos sanguíneos en la población de cisnes cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) del Santuario de la Naturaleza del sector de San Ramón perteneciente a vida silvestre. Lo que servirá como línea base para poder llevar a cabo otros estudios en esta especie a futuro.

Los objetivos específicos son:

- a) Describir los valores de actividad plasmática de las enzimas: AST, ALT, SAP.
- b) Describir los valores de metabolitos sanguíneos de glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, globulinas y albúmina.
- c) Describir los valores de concentración plasmática de Ca, P y Mg.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Material Biológico.

Se utilizaron 50 individuos cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*, Molina. 1782), inmaduros (n = 20) y adultos machos (n= 13) y hembras (n= 17) sin alteración clínica evidente. Las aves proceden del Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, Río Cruces, sector de San Ramón, Valdivia, Chile, ubicado entre las localidades de la Isla Teja y San José de la Mariquina (39° 35` - 39° 47`, latitud sur y 73° 07` - 73° 16` longitud oeste). El tamaño de la muestra se determinó por conveniencia, debido principalmente a los recursos económicos con los que se contaba para realizar este estudio.

4.1.2. Material de captura.

Para la captura se utilizaron dos botes a motor perteneciente a la CONAF y un chingillo, herramienta utilizada para capturar los cisnes desde el agua.

4.1.3. Material para la obtención de muestras de sangre.

Jeringas 3 ml, agujas de 1,5 pulgadas y 21G, tubos de vidrio con heparina sódica y con fluoruro de sodio (NaF) para muestras de sangre, nevera con unidades refrigerantes, gradilla, balanza, marcador para animales y huincha de medir.

4.1.4. Material de Laboratorio.

Se utilizaron los siguientes equipos:

- Centrífuga clínica (DYNAC).
- Autoanalizador para bioquímica clínica COBAS MIRA PLUS.
- Congelador FENSA -20° C.
- Pipetas de émbolo.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA) Perkin Elmer 4280.

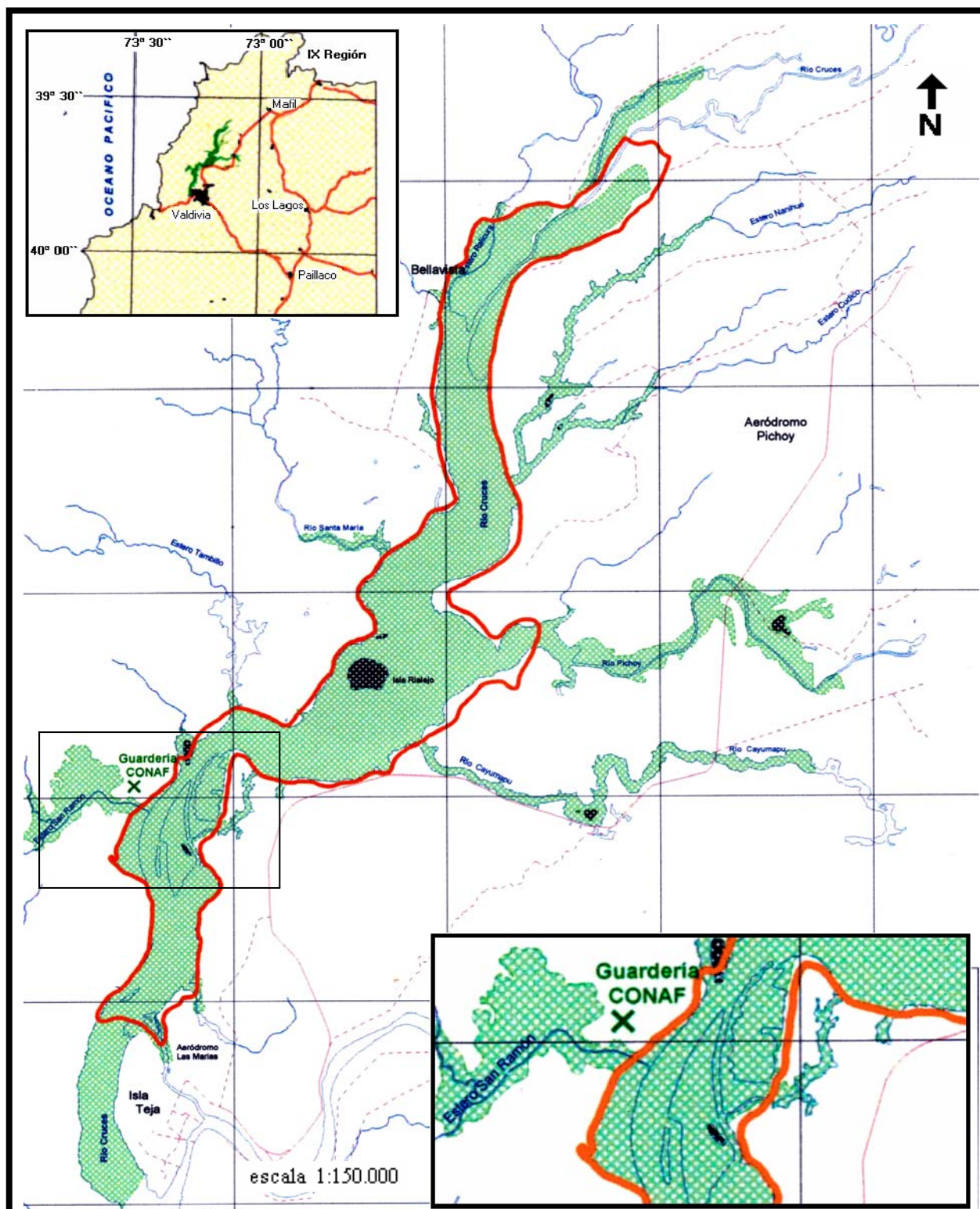


FOTO 1. Mapa del Santuario de la Naturaleza. La línea roja indica los límites del Santuario de la Naturaleza. En un recuadro de color negro se indica el sector de San Ramón, lugar de captura de los ejemplares de cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) (CHILE, 1999).

4.2 MÉTODOS

4.2.1. Captura de ejemplares.

Previo a la ejecución del trabajo se obtuvieron la autorizaciones del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y de la CONAF, para la captura y obtención de muestras de sangre de 50 individuos.

La captura de los ejemplares se efectuó en el Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile, durante 3 salidas a terreno realizadas los días 7 y 21 junio y 3 de septiembre. La cual se iniciaba a las 10:00 hrs de la mañana y se finalizaba a las 14:00 hrs de la tarde aproximadamente por los guardafaunas de CONAF, empleando un bote a motor y un chinguillo adaptado, es necesario destacar que en todas las capturas se utilizó el mismo método. Una vez en el bote se dejaban en bolsa para retenerlos. Y así ser llevados a tierra donde se dejaron en reposo en un corral de 4 mts² para estabilizar las constantes fisiológicas por un tiempo mínimo de 5 minutos. Luego de esto se procedió a la obtención de las muestras de sangre.

4.2.2. Obtención de las muestras de sangre.

De cada cisne se extrajo 3 ml de sangre de la vena metatarsal media ubicada sobre la cara medial del tarsometatarso (Kearns, 2003), depositándose: 2 ml en un tubo con heparina sódica (15 U/ml) y 1 ml en un tubo con NaF (2 mg/ml).

Dichas muestras se almacenaron en unidades refrigerantes para ser transportadas al Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Austral de Chile en un tiempo no superior a las 24 horas.

Complementariamente se determinó la edad basándose en las características fenotípicas diferenciando a los inmaduros, correspondientes a los menores de 2 año de edad, de los adultos, mayores de 2 año de edad. Además de ello, fueron sexados mediante eversión cloacal, apoyado con la observación de las características fenotípicas correspondiente a cada sexo. Previo a la liberación del ave se realizó un marcaje en las alas de cada cisne con ácido pícrico para evitar la recaptura.

4.2.3. Obtención del plasma.

La obtención del plasma se realizó mediante centrifugación a 2000 RPM por 10 minutos. Una vez obtenidos los plasmas, con heparina y con NaF (para glucosa), se almacenaron en microtubos previamente marcados con el número correspondiente a cada individuo, obteniéndose un total de 50 muestras, las que se mantuvieron a -20° C hasta ser analizados.

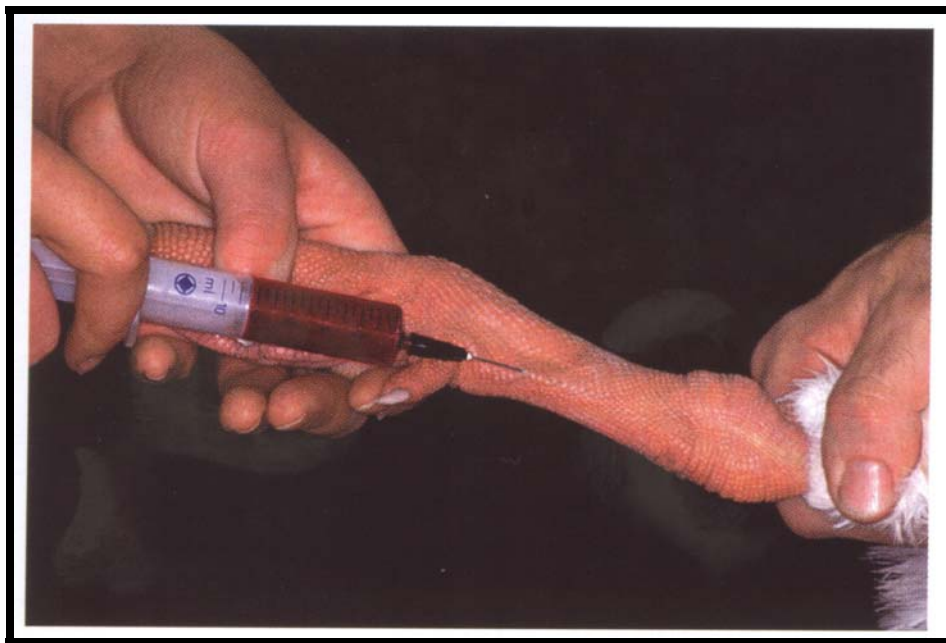


FOTO 2. Obtención de sangre en ganso doméstico por punción de la vena metatarsal media (Korbel y König, 2001)

4.2.4. Análisis de laboratorio.

Los análisis de laboratorio fueron realizadas por la Sra. Helga Böhmwald utilizando reactivos e instrumentos del Laboratorio de Patología Clínica de la Universidad Austral de Chile. Las variables bioquímicas analizadas para cada muestra fueron las siguientes:

Aspartato aminotransferasa (AST, EC 2.6.1.1.) en U/L, mediante un método cinético según IFCC (International Federation Clinical Chemistry) a 37°C, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 12021, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Alanino aminotransferasa (ALT, EC 2.6.1.2.) en U/L, mediante un método cinético IFCC (International Federation Clinical Chemistry) a 37°C, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 12022, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Fosfatasa alcalina (SAP, EC 3.1.3.1.) en U/L, por el método estándar optimizado de la DGKC (Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie) a 37°C, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 12027, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Colesterol en mmol/l por el método enzimático CHOD – PAD, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 10019, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Triglicéridos en mmol/l por el método enzimático GPO-PAP, empleando reactivo del laboratorio Roche, Artículo N° 2016648, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Glucosa en mmol/l por el método enzimático GOD-PAP (glucosa oxidasa y peroxidasa), empleando reactivo del laboratorio Roche, Artículo N° 1448668, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Proteínas totales en g/l por medio del método colorimétrico de Biuret, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 10570, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Albúminas en g/l por medio de una prueba colorimétrica fotométrica por el método BCG (Verde de Bromocresol), empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 10560, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Globulinas en g/l por medio de la diferencia obtenida entre proteínas totales y albúminas.

Calcio en mmol/l por medio de espectrofotometría de absorción atómica utilizando un EAA- Perkin Elmer 4280. Para ello las muestras fueron diluidas 1:50 en LaCl_3 al 0.1 %.

Fósforo se analizó en mmol/l por medio de una prueba colorimétrica UV, con heptamolibdato de amonio, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 10027, en un autoanalizador Cobas-Mira-Plus.

Magnesio en mmol/l por medio de espectrofotometría de absorción atómica utilizando un EAA- Perkin Elmer 4280. Para ello las muestras fueron diluidas 1:50 en LaCl_3 al 0.1 %.

4.2.5. Análisis de datos.

Se eliminaron los valores aberrantes, lo que entregó para cada variable los siguientes número de datos: AST (46); ALT (46); SAP (41); colesterol (44); triglicéridos (43); glucosa (47); proteínas totales (47); albúmina (47); globulina (47); calcio (47); fósforo (47) y Magnesio (47).

Los valores obtenidos para cada variable se analizaron utilizando el programa Microsoft Excel de Office 2000 y el programa STATISTIX. 8.0. Para obtener los resultados se realizaron los siguientes pasos:

- 1- Se determinaron los valores de las medias, medianas, rango y desviación estándar para los valores agrupados por edad (inmaduros y adultos) y sexo.
- 2- Se estableció la normalidad de la distribución de los datos para cada variable empleando la Kurtosis y Skew y la prueba de Shapiro-Wilk.
- 3- Se compararon los valores obtenidos entre los machos y hembras (inmaduros y adultos), así como entre inmaduros y adultos, mediante un ANOVA (AOV/AOCV) y las diferencias se compararon con el test de Tukey, o por Kruskal-Wallis cuando no hubo distribución normal.
- 4- Finalmente se determinaron los valores de referencia empleando el método de los promedios ± 2 desviaciones estándar o el de los percentiles (0,025 y 0,975) para las variables que no presentaron distribución normal.

5. RESULTADOS

Los valores de la actividad plasmática de las enzimas celulares AST, ALT y SAP se presentan en la Tabla 1. La distribución de los valores obtenidos en las muestras analizadas fue normal, se puede apreciar que la media fue siempre superior a la mediana y que la desviación estándar fue alta en todos los parámetros. No se observaron diferencias ($p > 0.05$) entre los machos y las hembras en los parámetros señalados.

TABLA 1. Actividad plasmática de AST, ALT y SAP, en cisnes de cuello negro machos y hembras adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

	AST U/l		ALT U/l		SAP U/l	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
n	12	15	12	15	10	13
Mínimo	18,0	12,0	32,0	17,0	200	180
Máximo	111,0	74,0	79,0	71,0	560	930
Mediana	36,0	30,0	41,5	36,0	290	330
Media	54,3	37,9	46,4	40,5	341	436
D.E.	35,7	17,7	15,3	16,6	130	258
Prueba						
normalidad	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Comparación entre machos y hembras $p > 0,05$.

Se observa en la Tabla 2 los valores de las concentraciones plasmáticas para el colesterol, triglicéridos y glucosa, las cuales presentaron distribución normal, por otra parte se puede apreciar que en las hembras la mediana es levemente inferior a la media y que la desviación estándar de los triglicéridos en las hembras es alta y cercana a la media. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los machos y las hembras en los parámetros señalados.

TABLA 2. Concentración plasmática de colesterol, triglicéridos y glucosa en cisnes de cuello negro machos y hembras adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

n	Colesterol mmol/l		Triglicéridos mmol/l		Glucosa mmol/l	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
	12	13	12	13	12	16
Mínimo	2,32	2,19	0,50	0,68	4,94	4,65
Máximo	3,98	3,93	2,09	6,22	10,41	9,79
Mediana	3,43	2,95	1,08	1,03	8,08	6,65
Media	3,30	3,02	1,10	1,78	7,78	6,96
D.E.	0,55	0,50	0,38	1,59	1,66	1,49
Prueba						
normalidad	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Comparación entre machos y hembras p> 0,05.

La distribución de los valores obtenidos de las concentraciones plasmáticas de proteínas totales, albúminas y globulinas (Tabla 3) presentaron distribución normal. Se puede observar que la media es similar a la mediana en todos los casos. No se encontraron diferencias ($p>0.05$) entre machos y hembras en los parámetros señalados.

TABLA 3. Concentración plasmática de proteínas totales, albúminas y globulinas en cisnes de cuello negro machos y hembras adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

N	Proteínas totales g/l		Albúminas g/l		Globulinas g/l	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
	12	16	12	16	12	16
Mínimo	45,0	39,0	15,0	15,0	27,0	24,0
Máximo	69,0	73,0	27,0	32,0	42,0	44,0
Mediana	51,0	55,0	18,5	18,5	31,5	35,5
Media	51,8	54,6	19,5	20,1	32,3	34,5
D.E.	6,1	9,2	3,1	5,1	3,6	5,6
Prueba						
normalidad	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Comparación entre machos y hembras p> 0,05.

Tal como se aprecia en la Tabla 4 las concentraciones plasmáticas de los minerales, calcio, fósforo y magnesio, la media fue cercana a la mediana y la distribución de los valores obtenidos fue normal en todos los parámetros. No se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre machos y hembras en los parámetros señalados.

TABLA 4. Concentración plasmática de calcio, fósforo y magnesio en cisnes de cuello negro machos y hembras adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

	Ca mmol/l		P mmol/l		Mg mmol/l	
	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras
N	12	16	12	16	12	16
Mínimo	1,70	1,59	0,68	0,49	0,76	0,73
Máximo	2,56	3,31	2,56	1,89	1,28	1,09
Mediana	1,96	1,97	1,07	1,30	0,99	0,91
Media	2,01	2,26	1,21	1,23	0,98	0,93
D.E.	0,27	0,56	0,55	0,46	0,16	0,11
Prueba						
normalidad	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Comparación entre machos y hembras $p > 0,05$.

Los valores de la actividad plasmática de las enzimas celulares AST, ALT y SAP se presentan en la Tabla 5. Los valores obtenidos en las muestras analizadas presentaron distribución normal, a diferencia de la actividad enzimática de SAP en los adultos, además se puede apreciar en este grupo que la media fue ampliamente superior a la mediana y que la desviación estándar es similar a la media. No se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre los inmaduros y adultos para la actividad enzimática de AST. En el caso de ALT y SAP, las diferencias encontradas fueron significativas ($p < 0,05$) entre los inmaduros y los adultos.

TABLA 5. Actividad plasmática de AST, ALT y SAP en cisnes de cuello negro inmaduros y adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

	AST U/l		ALT U/l		SAP U/l	
	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos
N	19	27	19	27	18	23
Mínimo	17,0	12,0	31,0	17,0	1650	180
Máximo	134,0	111,0	93,0	79,0	2960	930
Mediana	50,0	32,0	65,0	37,0	2185	330
Media	62,7	45,2	63,5*	43,2*	2268*	395*
D.E.	35,2	27,9	16,8	16,0	376	214
Prueba						
normalidad	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$

* = $p < 0,05$ entre categorías para una variable.

En la tabla 6 se indica las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos y glucosa. Tanto los valores obtenidos para el colesterol como para glucosa presentan distribución normal, por el contrario, los valores obtenidos para los triglicéridos en inmaduros y adultos no presentan distribución normal. Se puede apreciar además que la media fue cercana a la mediana en todos los casos, y que la desviación estándar de los triglicéridos es alta, similar a la media en los adultos. No se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre inmaduros y adultos en los parámetros señalados.

TABLA 6. Concentración plasmática de colesterol, triglicéridos y glucosa en cisnes de cuello negro inmaduros y adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

n	Colesterol mmol/l		Triglicéridos mmol/l		Glucosa mmol/l	
	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos
	19	25	18	25	19	28
Mínimo	1,37	2,19	0,60	0,50	4,90	4,65
Máximo	4,41	3,98	2,40	6,22	11,75	10,41
Mediana	3,27	3,18	1,25	1,08	6,88	7,23
Media	3,25	3,15	1,32	1,46	7,65	7,31
D.E.	0,72	0,53	0,38	1,21	2,13	1,59
Prueba						
normalidad	$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,05$	$p<0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$

Comparación entre inmaduros y adultos $p> 0,05$

Las valores en las concentraciones plasmáticas de proteínas totales, albúminas y globulinas se presentan en la Tabla 7. La distribución de los valores obtenidos en las muestras analizadas presentan distribución normal. La media es muy cercana a la mediana en todos los casos. No se observaron diferencias ($p>0.05$) entre los inmaduros y adultos en los parámetros señalados.

TABLA 7. Concentración plasmática de proteínas totales, albúminas y globulina en cisnes de cuello negro inmaduros y adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

n	Proteínas totales g/l		Albúminas g/l		Globulinas g/l	
	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos
	19	28	19	28	19	28
Mínimo	43,0	39,0	15,0	15,0	26,0	24,0
Máximo	59,0	73,0	28,0	32,0	38,0	44,0
Mediana	52,0	51,5	20,0	18,5	31,0	33,0
Media	50,8	53,4	19,8	19,8	31,1	33,5
D.E.	5,1	8,0	3,0	4,3	3,4	4,9
Prueba						
normalidad	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$

Comparación entre inmaduros y adultos $p> 0,05$.

La distribución de los valores obtenidos de las concentraciones plasmáticas de los minerales, calcio, fósforo y magnesio, (Tabla 8) en las muestras analizadas presentan distribución normal. Se puede observar que la media fue cercana a la mediana en todos los parámetros. Mientras que entre los inmaduros y los adultos no hubo diferencias ($p > 0,05$) en las concentraciones de calcio y magnesio, no fue así para las concentraciones de fósforo, las cuales fueron más altas ($p < 0,05$) en los inmaduros.

TABLA 8. Concentración plasmática de calcio, fósforo y magnesio en cisnes de cuello negro inmaduros y adultos del Santuario de la Naturaleza, Valdivia, Chile.

n	Ca mmol/l		P mmol/l		Mg mmol/l	
	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos	Inmaduros	Adultos
	19	28	19	28	19	28
Mínimo	1,78	1,59	1,22	0,49	0,80	0,73
Máximo	3,68	3,31	3,07	2,56	1,26	1,28
Mediana	2,12	1,97	2,00	1,15	0,94	0,94
Media	2,21	2,15	2,08*	1,22*	0,96	0,95
D.E.	0,47	0,47	0,46	0,49	0,11	0,13
Prueba						
normalidad	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

* = $p < 0,05$ entre categorías para una variable

En la Tabla 9 se presenta las medias, desviaciones estándar y valores de referencia del colesterol, triglicéridos, glucosa, proteínas totales, albúmina y globulinas, valores obtenidos del total de datos para cada parámetro. Los valores de referencia presentados para la actividad plasmática de AST y concentraciones plasmáticas de colesterol, glucosa, proteínas totales, albúminas, globulinas, calcio y magnesio se determinaron mediante el método de los promedios, en tanto, para los triglicéridos y calcio se utilizó el método de los percentiles.

TABLA 9. Media, desviaciones estándar y límites de referencia para variables bioquímicas sanguíneas en cisnes de cuello negro muestreados en el Santuario de la Naturaleza, sector de San Ramón, Valdivia, Chile.

Parámetro	(n°)	Unidad	Media	D.E.	Límites de referencia	
AST	46	U/l	52,4	32,0	0,0	116,4
Colesterol	44	mmol/l	3,19	0,61	1,97	4,41
Triglicéridos	43	mmol/l	1,40	0,95	0,51 *	5,98 **
Glucosa	47	mmol/l	7,45	1,81	3,83	11,07
Proteínas totales	47	g/l	52,3	7,0	38,3	66,3
Albúmina	47	g/l	19,8	3,8	12,2	27,4
Globulina	47	g/l	32,5	4,5	23,5	41,5
Calcio	47	mmol/l	2,18	0,46	1,63*	3,61**
Magnesio	47	mmol/l	0,95	0,12	0,71	1,19

*Percentil 0,025; **Percentil 0,975.

En la Tabla 10 se presenta los valores de referencia para la actividad plasmática de ALT, SAP y P en inmaduros y adultos por separado, debido a que se observaron diferencias entre ambos grupos para estas variables. Los valores de referencia para ALT y fósforo se determinaron mediante el método de los promedios al igual que la actividad plasmática de SAP en los inmaduros, no así con los adultos se determinaron por medio del método de los percentiles.

TABLA 10. Valor de referencia para actividad plasmática de ALT, SAP y fósforo en cisnes de cuello negro inmaduros y adultos muestreados en el Santuario de la Naturaleza, sector de San Ramón, Valdivia, Chile.

Parámetro	(n°)	Unidad	Media	D.E.	Límites de referencia	
ALT	19	U/l	63,5	16,8	29,8	97,2
Inmaduros						
	Adultos	27 U/l	43,2	16,0	11,2	75,1
SAP	Inmaduros	18 U/l	2268	376	1650 *	2960 **
	Adultos	23 U/l	530	512	180 *	930 **
P	Inmaduros	19 mmol/l	2,08	0,46	1,16	2,99
	Adultos	28 mmol/l	1,22	0,49	0,24	2,20

*Percentil 0,025; **Percentil 0,975.

6. DISCUSIÓN

El presente estudio de carácter descriptivo, en el cual se determinaron los parámetros bioquímicos más utilizados como ayuda en el diagnóstico clínico, es el primero de este tipo realizado en un sitio Ramsar en Chile en poblaciones silvestres de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*). Debido a que no se encontraron estudios similares en esta especie en el país, los resultados se compararán con los descritos en la literatura para diversas familias de aves.

6.1. Aspartato aminotransferasa (AST) y Alanino aminotransferasa (ALT).

En este estudio se obtuvieron valores de AST equivalentes a la mitad de los obtenidos en algunas especies de Columbiformes (*Columba livia domestica*) por Scope y col., (2002), a la misma temperatura. Peinado y col., (1992) señalan que la actividad plasmática de AST y ALT es variable entre las diferentes especies de aves.

Aunque no hubo diferencia significativa entre la actividad plasmática de AST entre adultos e inmaduros, se apreció una tendencia a ser más elevados en los últimos. Se han observado diferencias por edad ($P < 0,05$) en las actividades plasmáticas de AST en Anseriformes siendo más elevada en los inmaduros (Gee y col., 1981; Olsen y col., 2002).

Los valores obtenidos de ALT en buitres egipcios (*Nephron percnopterus*) adultos en cautiverio (Dell'Omo y Cavallina, 1996) fueron similares a los de este estudio, comparados a la misma temperatura.

La actividad de ALT en los individuos inmaduros es mayor que en los adultos, esto concuerda con HO y col., (2002) quienes señalan que la actividad enzimática de ALT es mayor durante el periodo de crecimiento en patos (L103 White Tsaiya).

La actividad muscular extrema antes del periodo de obtención de muestras, causa aumentos en la actividad plasmática de las enzimas musculares (Lumeij, 1997; Villouta y col., 1997; Polo y col., 1998), esto podría explicar la alta variabilidad en los valores con respecto a su media obtenidos para AST y ALT.

Es necesario destacar en este punto que existe una escasa información en las publicaciones con respecto a la metodología y temperatura utilizada por distintos autores en el análisis de éstas enzimas, dificultando la comparación entre los valores obtenidos en los diferentes estudios.

6.2. Fosfatasa Alcalina (SAP).

No se observó influencia del sexo sobre este parámetro al igual que Gee y col., (1981) en algunos Anseriformes, Gruiformes, Falconiformes, Galliformes, y por Olsen y col., (2002) en el cisne trompetero (*Cygnus buccinator*).

La actividad plasmática de SAP mostró diferencias consistentes relacionadas con la edad. Los valores obtenidos sugieren que la actividad plasmática de esta enzima es mayor ($P < 0.05$) en los individuos inmaduros que en los adultos, lo que concuerda con lo señalado por Gee y col., (1981); Lavin y col., (1992); Olsen y col., (2002). Las diferencias encontradas podrían estar relacionadas con procesos de calcificación en las aves, lo que se refleja en el cambio de hueso cartilaginoso en cisnes muy jóvenes a calcificado en los más adultos (Olsen y col., 2002).

Los valores obtenidos para este parámetro no fueron comparados con los de otras especies, ya que los trabajos revisados entregan poca especificación de los métodos y las temperaturas utilizadas para el análisis de las muestras.

6.3. Colesterol y Triglicéridos.

Los valores obtenidos en las concentraciones de colesterol en este estudio son similares a los encontrados en algunas especies de gansos (*Anser albifrons gambelli* y *Anser domesticus*) (Gee y col., 1981; Carpenter y col., 2001). En otros Anseriformes (*Branta sandvicensis* y *Branta canadensis leucopareia*) (Gee y col., 1981) y en algunos Psittacidos (Scope., 2000) los valores fueron superiores a los obtenidos en este estudio.

Gee y col., (1981) señalan que en aves existen diferencias en las concentraciones plasmáticas de colesterol entre sexos. Stoskopf y col., 1983 y Faqui y col., (1997) indican que estas son mayores en las hembras, pero que tales diferencias no son significativas. En el presente estudio no se observaron diferencias.

Tampoco se observaron variaciones en las concentraciones de colesterol por efecto de la edad, por el contrario, Olsen y col., (2002) y Averbeck, (1992) reportaron concentraciones de colesterol superiores a mayores edades en cisnes trompeteros (*Cygnus buccinator*) y gaviota arenque (*Larus argentatus*) respectivamente, por el contrario Dell'omo y Cavallina (1996) reportaron que en buitres egipcios (*Neophron percnopterus*) las concentraciones de colesterol son más bajas a mayores edades. Las diferencias se pueden atribuir en parte a que las concentraciones de colesterol son dependientes del estado nutricional y la naturaleza de la ingesta de alimento (Averbeck, 1992; Polo y col., 1998).

Debido a que los valores de triglicéridos no presentaron una distribución normal, los límites de referencia se establecieron utilizando el método de los percentiles, límites que presentaron una amplitud notoria al compararlos con los obtenidos por otros autores en Anseriformes (Gee y col., 1981; Olsen y col., 2002) y en algunos Psittaciformes (Scope y col., 2000), a pesar de esto las media se asemejan bastante.

En el presente estudio no se observó influencia del sexo sobre la concentración plasmática de triglicéridos a pesar de que en las hembras hay una tendencia a ser mayores. Klasing (1998) señala que las concentraciones de triglicéridos pueden aumentar en hembras en actividades reproductivas como la crianza. La captura de algunas hembras con estas características podría explicar la alta variación observada y la distribución anormal de los datos. Por otra parte, variaciones en las concentraciones de triglicéridos entre las diversas especies de aves, se debe a diferencias en la dieta (Dell'omo y Cavallina, 1996).

6.4. Glucosa.

Los valores observados en los cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) corresponden al doble de los reportados en mamíferos por Wittwer y Böhmwald, (1983).

Las concentraciones de glucosa plasmática obtenidas en los cisnes de cuello negro silvestres fueron similares a los valores descritos en cisnes trompeteros (*Cygnus buccinator*) en cautiverio (Olsen y col., 2002) y menores que los de otros Anseriformes y Galliformes en cautiverio, (Balasch y col., 1973; Gee y col., 1981). Esto puede tener relación con la baja eficiencia digestiva que tiene el cisne y a que la materia vegetal que consumen es de baja digestibilidad (17,9%) (Corti., 1996), además se debe considerar que las aves silvestres tienen una glicemia menor que las aves en cautiverio (Peinado y col., 1992)

En esta investigación, no hubo variación significativa en la concentración de glucosa dadas por el sexo o por la edad, lo mismo fue observado en varias especies del orden Phoenicopteriforme (*Phoenicopus ruber ruber*, *Phoenicopus ruber roseus*, *Phoenicopus chilensis*, *Phoeniconais minor*) (Peinado y col., 1992), Galliformes (*Coturnix coturnix japonica*) (Faqui y col., 1997) y Anseriformes (*Cygnus buccinator*) (Olsen y col., 2002). Esto difiere con lo señalado por otros autores quienes señalan que existen diferencias entre machos y hembras sexualmente maduras (Gee y col., 1981; Stoskopf y col., 1983).

6.5. Proteínas totales, albúminas y globulinas.

En los mamíferos las concentraciones plasmáticas de proteínas totales varían entre los 60-80 g/l (Wittwer y Böhmwald, 1983). Polo y col., (1998) señalan que las concentraciones de proteínas totales en el plasma aviar son menores. Lo que concuerda con lo observado en el presente estudio.

Los límites de referencia obtenidos en esta investigación para la concentración de proteínas totales fueron inferiores a los reportados en pingüinos de Humboldt (*Spheniscus humboldti*) por Villouta y col., (1997), similares a los reportados en Anseriformes (*Branta canadensis leucopareia* y *Branta sandvicensis*) (Gee y col., 1981; Carpenter y col., 2001) y Galliformes (*Gallus gallus gallus*) (Balasch 1973), y Columbiformes (*Columba livia domestica*) (Scope y col., 2002) y superiores a los obtenidos en Psittaciformes (Scope y col., 2000).

Entre algunos factores que afectan las concentraciones de las proteínas plasmáticas están: la muda (Villouta y col., 1997), los cambios estacionales, la dieta (Peinado y col., 1992) y si el ave está o no en cautiverio (Toro y col., 1997). Estos pueden ser los causantes de las diferencias encontradas con otros Anseriformes (Olsen y col., 2002).

Al determinar el efecto del sexo y la edad sobre estos parámetros y se pudo apreciar que ambas variables no afectaron las concentraciones de proteínas totales, albúminas y globulinas del plasma de los cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), sin embargo otros autores señalan que hay diferencias en las concentraciones de proteínas totales entre juveniles y adultos (Gee y col., 1981; Lavin y col., 1992).

La concentración plasmática de albúmina en los cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) fue similar a las encontradas en Anseriformes (Gee y col., 1986; Carpenter y col., 2001), Galliformes (Gee y col., 1981) y por Villouta y col., (1997) en pingüinos de Humboldt (*Spheniscus humboldti*), mediante las mismas técnicas de laboratorio utilizadas en este estudio. Aunque Lumeij, (1997) señala que esta técnica no es confiable en aves, por la baja capacidad de unión de la albúmina con el colorante bromocresol, lo que podría ser demostrado en futuras investigaciones en esta especie.

Las concentraciones de globulinas plasmáticas fueron similares a las de varias especies de Anseriformes (Gee y col., 1986; Carpenter y col., 2001), inferiores a las presentadas por Villouta y col., (1997) en pingüinos de Humboldt, y superiores a las presentadas por Gee y col., (1986) en Galliformes

6.6. Calcio y fósforo.

Los valores de Ca obtenidos en el presente estudio son similares a los reportados en algunas especies de Anseriformes (Carpenter y col., 2001; Olsen y col., 2002), Psittaciformes (Polo y col., 1998) y Phoenicopteriformes (Peinado y col., 1992). Por otra parte Scope y col., (2000) reportan valores superiores en Psittaciformes (*Eos spp.*).

Gee y col., 1981 señalan haber encontrado diferencias en las concentraciones plasmáticas del calcio y fósforo entre machos y hembras, estas diferencias no se observaron en el presente estudio. Los límites de referencia para calcio se obtuvieron por el método de los percentiles debido a que los valores no presentaron distribución normal.

No se apreció influencia de la edad sobre la concentraciones de Ca, pero si sobre las de P, observándose que en promedio los juveniles presentan concentraciones plasmáticas mayores que los adultos, esto concuerda con lo señalado por Gee y col., (1981) en Anseriformes y Galliformes.

Las concentraciones plasmáticas de P obtenidas para los cisnes adultos son similares a las reportadas en loríes rojos (*Eos spp.*) (Scope y col., 2000), y menores a los encontrados en Psittaciformes adultos (Polo y col., 1998), y ampliamente inferiores a las concentraciones plasmáticas normales encontradas en Phoenicopteriformes (*Phoenicopus ruber ruber*, *Phoenicopus ruber roseus*, *Phoenicopus chilensis*, *Phoeniconais minor*) por Peinado y col., (1992).

6.7. Magnesio.

Los valores obtenidos en cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) son similares a los valores reportados en algunas especies del orden Phoenicopteriformes (Peinado y col., 1997), Galliformes (Faqui y col., 1997) y Psittaciformes (Polo y col., 1998), utilizando la misma técnica empleada en este estudio.

Faqui y col., (1997) observaron en codornices japonesas que las hembras presentan concentraciones mayores de magnesio que los machos, tales diferencias no se observaron en el presente estudio. Tampoco se observaron diferencias provocadas por la edad, a diferencia de Toro y col., (1997) quienes encontraron diferencias entre inmaduros y adultos.

6.8. Observaciones generales.

Los valores encontrados están dentro de los esperados para las aves, observándose similitudes y diferencias al compararlas con otras especies.

El periodo de obtención de muestras, junio a septiembre, corresponden al periodo reproductivo y hay muchos factores que pueden tener alguna influencia sobre estos valores, por lo que sería recomendable un estudio secuencial en el tiempo.

El estrés es un factor imposible de controlar en estudios de esta naturaleza, en especial cuando se trabaja con animales silvestres, y debe tenerse en cuenta ya que ocasiona variaciones en los constituyentes químicos del plasma (Polo y col., 1998).

Existe poca especificación de las técnicas de laboratorio y temperaturas utilizadas para el análisis de las muestras en diversas publicaciones, lo que dificulta la comparación de los resultados obtenidos con otros autores, ya que pueden ocurrir variaciones en los resultados cuando los datos son obtenidos por diferentes metodologías (Duncan, 2000; Scope y col., 2000).

6.9. Conclusiones.

Los cisnes de cuello negro juveniles de vida silvestre muestreados, pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter” presentan una mayor actividad y concentración plasmática de ALT, SAP y P, respectivamente, que los adultos lo que indica que la edad tiene influencia sobre estos parámetros.

No se observaron diferencia entre machos y hembras adultos en los diversos parámetros estudiados, lo que indica que no existió influencia del sexo en el grupo de cisnes de cuello negro silvestres estudiados.

Se obtuvieron límites de referencia de variables bioquímicas sanguíneas en cisnes de cuello negro silvestres en el Santuario de la Naturaleza, los que pueden servir como base para futuros estudios en esta especie.

7. BIBLIOGRAFÍA

- AGRENJO, C. 1964. Enciclopedia de Avicultura. Introducción Histórica por Sanz Egaña. 2ª Edición. Espas- Calpe, S. A. Madrid.
- ARAYA, B.; G. MILLIE, 1996. Guía de Campo de las Aves de Chile. 7º Edición. Editorial Universitaria. Chile.
- AUSTIC, R.; M. SCOTT. 2000. Enfermedades Nutricionales. En: Enfermedades de las aves. 2ª (Ed) en español. Calnek, B. (Ed.). El Manual Moderno. México.
- AVERBECK, C. 1992. Haematology and blood chemistry of healthy and clinically abnormal Great Black-backed Gulls (*Larus marinus*) and Herring Gulls (*Larus argentatus*). *Avian Pathol.* 21: 215-223.
- BALASCH, J.; L. PALACIOS; S. MUSQUERA; J. PALOMEQUE; M. JIMÉNEZ; M. ALEMANY. 1973. Comparative Hematological values of several galliformes. *Poultry Sci.* 52: 1531-1534.
- BELL, D.; P. STURKIE. 1968. Constituyentes Químicos de la Sangre. En: Fisiología Aviar. P. Sturkie (Ed). Ed Acribia. Zaragoza. España.
- BERMES, E.; V. ERVITI; D. FORMAN. 1976. Statistics, Normal Values and Quality Control. En: Fundamental of Clinical Chemistry. N. Tietz (Ed.). W.B. Saunders, Co. Philadelphia, USA.
- BLAKE, E. 1977. Manual of Neotropical birds, Volume1. The University of Chicago Press, USA.
- BLEM, CH. 2000. Energy Balance. En: Sturkie's Avian Physiology. 5th Ed. G. Witthow (Ed.). Ed Academic Press. USA.
- CARPENTER, J; T. MASHIMA; D. RUIPER. 2001. Exotic Animal Formulary. 2nd Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia, USA.
- CHILE. 1988. Ministerio de Agricultura. Corporación Nacional Forestal (CONAF). Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile. A Glade (Ed.).
- CHILE. 1999. Ministerio de Agricultura. Corporación Nacional Forestal (CONAF). Plan de Manejo Reserva Nacional Río Cruces. Documento de Trabajo N° 325.

- CHILE. 2000. Ministerio de Agricultura. Corporación Nacional Forestal (CONAF). Censos de especies de fauna 1995- 1999; Censos de Áreas de Concentración de Fauna 1995-1999; Listado de Vertebrados terrestres y dulceacuícolas de Chile y su Distribución regionalizada. C. Cunnaza; I. Benoit (Eds.). Gobierno de Chile.
- COMITÉ NACIONAL DE HUMEDALES DE CHILE. 2000. Estrategia Nacional Para la Conservación y Uso Racional de los Humedales en Chile. Febrero, 2000.
- CONVENCIÓN RELATIVA A LOS HUMEDALES DE IMPORTANCIA INTERNACIONAL ESPECIALMENTE COMO HÁBITAT DE AVES ACUÁTICAS IRAN, RAMSAR. 1971. disponible en: <http://www.conama.cl/portal/1255/article-26047.html> consultado con fecha julio 2003.
- CORTI, P.1996. Conducta de Alimentación y Capacidad de Forrajeo del Cisne de Cuello Negro (*Cygnus melanocorypha* Molina, 1782) en Humedales de Valdivia. Tesis M. V. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias. Valdivia, Chile.
- DELL'OMO, G.; R. CAVALLINA. 1996. Blood chemistry and haematological values of captive Egyptian vultures (*Neophron percnopterus*). *Avian Pathol.* 25: 613-618.
- DENBOW, D. 2000. Gastrointestinal Anatomy and Physiology. En: Sturkie's Avian Physiology. 5th Ed. G. Witthow (Ed.). Academic Press. USA.
- DROUILLY, P. 1976. Primer Censo Nacional del Cisne de cuello negro. *Cygnus melancoryphus* (MOLINA, 1782), en Chile. *Medio Amb.* 2: 57-63.
- DUNCAN, J. 2000. Bioquímica Clínica. En: Manual de Patología Clínica en Pequeños Animales. Davidson, M; R. Else; J. Lumsden (Eds). Ed. Harcourt, España.
- ELSE, R; B. KELLY. 2000. Recogida y Manejo de las muestras para diagnóstico. En: Manual de Patología Clínica en Pequeños Animales. Davidson, M; R. Else; J. Lumsden (Eds). Ed. Harcourt, España.
- FAQUI, R.; R.SOLECKI; R. PFEIL; V. HILBIG. 1997. Standard values for reproductive and clinical chemistry parameters of Japanese quail. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 104: 167-169.
- FARVER, T. 1997. Concepts of Normality in Clinical Biochemistry. En: Biochemistry of Domestic Animals. 5th Ed. J. Kaneko; J. Harvey; M. Bruss (Eds.). Ed Hacourt Brace & Company. USA.
- GEE, G.; J. CARPENTER; G. HENSLER. 1981. Species differences in hematological values of captive cranes, geese, raptors and quail. *J. Wildlife Manage.* 45: 463-483.
- GOLDSTEIN, D.; E. SKADHAUGE. 2000. Renal and Extrarenal Regulation of Body Fluid Composition. En: Sturkie's Avian Physiology. 5th Ed. G. Witthow (Ed.). Academic Press. USA.

- GUGLIELMO, C.; P. O'HARA; T. WILLIAMS. 2001. Extrinsic and Intrinsic Sources of Variation in Plasma Lipid Metabolites of Free-living Western Sandpipers (*Calidris mauri*). *The Auk*. 119: 437–445.
- HALL, E. 2000. Sistema hepatobiliar. En: Manual de Patología Clínica en Pequeños Animales. Davidson, M; R. Else; J. Lumsden (Eds). Ed. Harcourt, España.
- HAZELWOOD, R. 1968. Metabolismo de los hidratos de carbono. En: Fisiología Aviar. P. Sturkie (Ed). Ed Acribia. Zaragoza, España.
- HAZELWOOD, R. 2000. Pancreas. En: Sturkie's Avian Physiology. 5th Ed. G. Witthow (Ed.). Ed Academic Press. USA.
- HO, W; Y. SHIEN; B. CHEN; S. LAI. 2002. Comparison of Serum Chemistry Values in Inbred Duck (L103) White Tsaiya and its Parent Stock of Brown Tsaiya Duck. *Taiwan Veterinary J*. 28: 260-265.
- HUMPHREYS, P. 1978. Ducks, Geese, Swans (Anseriformes). En Zoo and Wild Animal Medicine. M Fowler (Ed). Ed Saunders Company. Philadelphia, USA.
- JOHNSON, A. 2000. Reproduction in the Female. En: Sturkie's Avian Physiology. 5th Ed. G. Witthow (Ed.). Ed. Academic Press. USA.
- KEARNS, K. 2003. Anseriformes (Waterfowl, Screamers). En: Zoo and Wild Animal Medicine. 5th Ed. M. Fowler; E. Miller (Eds). Ed. W. B. Saunders. USA.
- KLASING, K. 1998. Comparative Avian Nutrition. Cab International. London. UK.
- KORBEL, R.; H. KÖNIG. 2001. Applikations- und Blutentnahmetechniken. En: Anatomie und Propädeutik des Geflügels, Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis. König, H; H. Liebich (Eds). Ed Schattauer. Stuttgart, Germany.
- KRAMER, J.; E. HOFFMANN. 1997. Clinical Enzymology. En: Biochemistry of Domestic Animals. 5th Ed. J. Kaneko; J. Harvey; M. Bruss (Eds). Ed. Hacourt Brace & Company. USA.
- LAVÍN, S.; R. CUENCA; I. MARCO; R. VELARDE; L. VIÑAS. 1992. Haematology and blood biochemistry of carpecaillie (*Tetrao urogallus*). *Avian Pathol*. 21: 711-715.
- LUMEIJ, J. 1997. Avian Clinical Biochemistry. En: Biochemistry of Domestic Animals. 5th Ed. J. Kaneko; J. Harvey; M. Bruss (Eds). Ed Hacourt Brace & Company. USA.
- LUMSDEN, J. 2000. Interpretación de los resultados de Laboratorio. En: Manual de Patología Clínica en Pequeños Animales. M. Davidson; R. Else; J. Lumsden (Eds.). Ed. Harcourt, España.

- MANSILLA, Y. 1997. Lineamientos para el manejo del Santuario de la Naturaleza y Propuesta Reserva Nacional del Río Cruces en Valdivia (Chile). Tesis I.F. Universidad. Austral de Chile. Facultad de Cs. Forestales. Valdivia. Chile.
- MEYER DE SCHAUENSEE, R. 1970. A guide to The Birds of South America. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Livingston Publishing Company. Wynnewood, Pennsylvania.
- OLSEN, G.; D. RININGER; M. ETS; W. SLADEN. 2002. Baseline haematology and clinical chemistry results from captive-raised Trumpeter Swans. *Waterbirds* 25 (Special Publication 1: 375 – 379).
- PADILLA, L.; K. HUYVAERT; J. MERKEL; R. MILLER; P. PARKER. 2001. Hematology, Plasma Chemistry, Serology and Chlamydothyla status of the waved albatross (*Phoebastria irrorata*) on the Galapagos Islands. *J of Zoo and Wildlife Manage.* 34: 3, 278-283.
- PERRY, M; H. OBRECHT; B. WILLIAMS; W. KUENZEL. 1986. Blood Chemistry and Hematocrit of Captive and Wild Canvasbacks. *J. Wildlife Manage.* 50: 435-441.
- PEINADO, V.; F. POLO; G. VISCOR; J. PALOMEQUE. 1992. Haematology and blood chemistry values for several flamingo species. *Avian Pathol.* 21: 55-64.
- POLO, F; V. PEINADO; G. VISCOR; J. PALOMEQUE. 1998. Hematologic and plasma chemistry values in captive psittacine birds. *Avian Dis.* 42: 523-535.
- ROSSKOPF, W.; R. WOERPEL; G. ROSSKOPF; D. VAN DE WATER. 1982. Hematologic and blood chemistry values for common pet avian species. *Vet. Med-US.* 77: 1233-1239.
- ROTTMAN, J.; M. LÓPEZ-CALLEJA. 1992. Estrategia nacional de conservación de aves. SAG. División de protección de los Recursos Naturales Renovables. (Serie Técnica 1: 1-16).
- SALAZAR, J. 1988. Censo poblacional del cisne de cuello negro (*Cygnus melancoryphus*) en Valdivia. *Medio Amb.* III Simposio de Vida Silvestre. 9: 78-87.
- SAN MARTIN, C.; D. CONTRERAS; C. RAMIREZ. 2000. El Recurso Vegetal del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter” (Valdivia, Chile). *Revista Geográfica de Valparaiso.* 31: 225-235.
- SCHLATTER, R. 1998. El cisne de cuello negro en Chile. En: La Conservación de la Fauna Nativa de Chile. Logros y Perspectivas. Víctor Valverde (Ed.). CONAF. Ministerio de Agricultura. Chile.

- SCHLATTER, R.; Y. MANSILLA. 1998. Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar. Categorías aprobadas por la Recomendación 4.7 de la Conferencia de las partes Contratantes.
- SCHLATTER, R.; R. NAVARRO; P. CORTI. 2002. Effects of El Niño Southern Oscillation on Numbers of Black-necked Swans at Río Cruces Sanctuary, Chile. En: E. C. Rees, S. L. Earnst and J. Coulson (Eds.). Proceedings of the Fourth International Swan Symposium 2001. *Waterbirds* 25: Special Publication 1. 114-122.
- SCHLATTER, R.; J. RUIZ; A. SIMEONE; P. CORTI; L. MIRANDA; L. THON; R. ROSAS. 1997. La Recuperación natural de una especie amenazada en Chile Evidencias Demográficas con el Cisne de Cuello Negro (*Cygnus melancoryphus*) en el Sitio Ramsar del Río Cruces, Valdivia. En: III Congreso Chileno de Ornitología. V Encuentro Nacional de Ornitólogos, Santiago, Chile.
- SCHLATTER, R. P.; J. SALAZAR; A. VILLA; J. MEZA. 1991a. Demography of Black-Necked Swans *Cygnus melancoryphus* in Three Chilean wetland areas. J. Sears and P. J. Bacon (Eds). 3d IWRB International Swan Symp. Oxford 1989. Wildfowl Suppl. N° 1:88-94.
- SCHLATTER, R.; J. SALAZAR; A. VILLA; J. MESA. 1991b. Reproductive biology of black-necked Swans *Cygnus melancoryphus* at three Chilean wetland areas and feeding ecology at Rio Cruces. En 3rd Int. Swan Symp., Oxford. England. 268–271.
- SCOPE, A.; I. SCHWENDENWEIN; F. ENDERS; C. GABLER; E. SEIDL; T. FILIP.; V.SOKLARIDIS. 2000. Hematologic and clinical chemistry reference values in Red lories (*Eos spp.*). *Avian Dis.* 44: 885-890.
- SCOPE, A.; T. FILIP; C. GABLER; F. RESCH. 2002. The influence of stress from transport and handling on Hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Dis.* 46: 224-229.
- SCOTT, P. 1972. The Swans & The Wildfowl Trust. Houghton Mifflin Company, Boston, London.
- SUBIABRE, S.; H. ROJAS. 1994. Geografía Física de la Región de los Lagos. Dirección de Investigación y Desarrollo. Universidad Austral de Chile. Valdivia. Chile. 118.
- STOSKOPF, M.; E. NEELY; B. MANGOLD. 1983. Avian Hematology in Clinical Practice. *Modern Veterinary Practice.* 64: 713-717.
- TAYLOR, G.; C. DACKE. 1971. Calcium Metabolism and its Regulation. En: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. Vol 5. B. Freeman (Ed.). Ed Academic Press. England.

- TORO, H; E, PAVÉZ; R, GOUGH; G MONTES; E, KALETA. 1997. Serum Chemistry and Antibody Status to some Avian Pathogens of Free – Living and Captive Condors (*Vultur gryphus*) of Central Chile. *Avian Pathol.* 26: 339-345.
- VILLOUTA, G.; R. HARGREAVES; V. RIVEROS. 1997. Haematological and clinical biochemistry findings in captive Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*). *Avian Pathol.* 26: 851-858.
- WELLS, J.; A. GILBERT. 1971. Steroid Hormone Production by the Ovary. En: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. Vol 5. B. Freeman (Ed). Ed Academic Press. England.
- WITTWER, F.; H. BÖHMWALD.1983. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile.
- ZANDER, D; A. BERMUDEZ; E. MALLINSON. 2000. Principios de prevención de enfermedades: diagnóstico y control. En: Enfermedades de las aves. Calnek, B. W. 2ª Edición en español traducida de la 10ª en inglés. Editorial El Manual Moderno. México.

8. ANEXOS

ANEXO N° 1. Autorización N° 459 de la Unidad de Patrimonio Silvestre de la Corporación Nacional Forestal, Región de Los Lagos, Puerto Montt, para la investigación en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwanter”.

REGIÓN DE LOS LAGOS
U. G. PATRIMONIO SILVESTRES N° 286
U. T. PATRIMONIO SILVESTRES N° 76

N° 459.
REF.: AUTORIZA INVESTIGACIÓN EN S.
DE LA NATURALEZA RÍO CRUCES.

PUERTO MONTT: 23 MAYO 2003.

SEÑORES.
ALVARO BOETTCHER GALLARDO.
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE.
CAMPUS ISLA TEJA S/N.
VALDIVIA.

De mi consideración:

La Corporación Nacional Forestal Región de Los Lagos, autoriza a la Universidad Austral de Chile, para la realización de los estudios de investigación titulado “Valores bioquímicos sanguíneos de Cisnes de Cuello Negro (*Cygnus melancoryphus*, Molina 1782) en poblaciones silvestres, Chile”, bajo las condiciones que señala el Reglamento para la Realización de Investigaciones dentro de las Áreas Silvestres Protegidas del Estado.

Sin otro particular, saluda atentamente a Ud.,

PEDRO BAHAMONDEZ BARRIA
DIRECTOR REGIONAL CONAF
REGIÓN DE LOS LAGOS

ANEXO N° 2. Reglamento para la realización de Investigaciones dentro de las Áreas Silvestres Protegidas del Estado.

**AUTORIZACIÓN PARA INVESTIGACIÓN
EN AREAS SILVESTRES PROTEGIDAS DEL ESTADO**

**CONAF X REGIÓN
AUTORIZACIÓN N° 110
PUERTO MONTT, 22 DE MAYO 2003**

La Corporación Nacional Forestal, X Región, representada por su Director Regional Sr. Pedro Bahamonez Barria, autoriza al Sr. Alvaro Boettcher Gallardo, Investigador de la Universidad Austral de Chile, con domicilio Campus Isla Teja s/n, Valdivia, para la realización del proyecto titulado “Valores bioquímicos sanguíneos de Cisnes de Cuello Negro (*Cygnus melancoryphus*, Molina 1782) en poblaciones silvestres, Chile” desde Mayo 2003 a Diciembre 2003.

Los investigadores asociados son:

- Roberto P. Schlatter V.

Mediante el presente instrumento la Corporación Nacional Forestal X Región, como Organismo Administrador y Rector del Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas del Estado de Chile y en particular de la Reserva Nacional del Río Cruces, Valdivia, acorde al Reglamento de Investigaciones en el interior de estas Áreas, autoriza el estudio en los siguientes términos.

Se autoriza la realización de este proyecto en la Unidad del SNASPE anteriormente mencionadas, con la salvedad que el investigador debe realizar sus actividades en terreno de tal forma que estas causen la menor alteración de estas áreas.

Se autoriza el apoyo de Guardas de CONAF y el transporte fluvial en el sitio Ramsar, cuando sea necesario y si éste no altera el normal funcionamiento de la Unidad, previa coordinación con el Encargado de la U. G. Patrimonio Silvestre de Valdivia. El combustible deberá ser cancelado por el proyecto.

Se autoriza la captura, obtención de muestras y devolución a su medio de una cifra máxima de 50 individuos (*Cygnus melancoryphus*).

OBSERVACIONES:

El Investigador deberá tomar contacto con el encargado de U: G. P. S. de la Zona de Valdivia, y en su defecto con el guardaparque del sector, previo a cada visita que se realice a la Unidad con motivos de estudio.

El Investigador deberá remitir a esta Dirección Regional cuatro (4) ejemplares de los informes parciales y finales que surja de esta investigación, con un plazo máximo de seis meses después del final del proyecto.

CONAF se reserva el derecho de incorporar a uno o más funcionarios de la institución en las actividades de terreno de la Investigación.

El Investigador se compromete a respetar las normas legales y técnicas de las Áreas Silvestres Protegidas y las indicaciones que CONAF le señale.

En caso que el Investigador requiera algún otro tipo de apoyo, éste deberá coordinarlo directamente con la U. G. Patrimonio Silvestre de la Décima Región en calle Amunátegui 500 Puerto Montt.

CONAF, no se responsabiliza por daños, deterioro o pérdida de equipos instrumentos, que instale el Investigador dentro de la Unidad donde se realizara el estudio, ocasionado por causas de derrumbes, incendios, temporales, inundaciones, robo, vandalismos, sismos, o cualquier otra causa, para todos los efectos el único responsable es el Investigador.

El investigador deberá estar dispuesto a realizar una charla donde se realicen los estudios, con relación a su investigación, lo que deberá coordinar directamente con el administrador de la Unidad o encargado de Zona. Además deberá estar dispuesto a dictar otra charla al personal técnico de CONAF si la Corporación lo requiere, en coordinación con la U. G. P. S. de la X Región en sus oficinas de CONAF en Puerto Montt, Calle Amunátegui N° 500.

La presente autorización es sin perjuicio de las que corresponda dar a particulares de predios privados, otros servicios o autoridades, de acuerdo, a las disposiciones legales o reglamentarias vigentes que se establezcan y cuya tramitación será de exclusiva responsabilidad del Investigador.

Durante las actividades en terreno, los Investigadores no deberán dejar desechos ni realizar alteraciones en las Unidades que visite.

En conformidad con el compromiso contraído por la investigadora en su solicitud de investigación con fecha 19 de mayo 2003, éste declarara conocer y se compromete a cumplir las normas del Reglamento sobre Proyectos de Investigación en Áreas Silvestres Protegidas del Estado de Chile.

NOMBRE : PEDRO BAHAMONDEZ BARRIA
CARGO : DIRECTOR REGIONAL X REGIÓN, CONAF
FECHA : 22 DE MAYO DE 2003.

ANEXO N° 3. Autorización Fauna N° 1-41/ 2003-11-14 550 del Departamento de protección de Recursos Naturales Renovables, Subdepartamento de Vida Silvestre del Servicio Agrícola y Ganadero, Gobierno de Chile, para la Captura de cisnes de cuello negro con fines científicos

SANTIAGO, 22 agosto 2003

N° 2300 VISTOS: La solicitud del interesado de fecha 12 de junio del 2003; lo dispuesto en la Ley N° 19.473, sobre caza; en el Decreto Supremo N° 5 de Agricultura, de 1998; la Resolución N° 9 de 13 de enero de 1978 del Director Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero y La Ley N° 18.755, Orgánica del Servicio.

RESUELVO.

PRIMERO: Autorízase al Sr. Roberto Schlatter V., CI N° 4.773.676-5, con domicilio en el instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile, y al Sr. Alvaro Boettcher Gallardo, CI N° 13.587.375-6, con domicilio en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, la captura y caza de cisnes de cuello negro (*Cygnus melancoryphus*) con fines científicos, de acuerdo a las normas de la presente Resolución.

SEGUNDO: Se autoriza la captura, en forma manual o, mediante redes y lazos, de un máximo de 50 ejemplares de cisnes de cuello negro, dentro de los límites del Santuario de la Naturaleza Carlos Anwandter, Valdivia, a contar desde la fecha de esta resolución y hasta el 31 de octubre del 2004.

Se autoriza el marcaje y la toma de muestras sanguíneas y cloacales, luego de lo cual, las aves deberán ser liberadas en los mismos sitio de captura.

Se autoriza además, la captura y posterior eutanasia de un máximo de 20 ejemplares de cisne de cuello negro que presenten malformaciones o que sean encontrados moribundos.

TERCERO: Los interesados deberán contar además con la autorización de la Corporación Nacional Forestal.

CUARTO: Los interesados deberán informar por escrito, a la oficina sectorial SAG Valdivia, las fechas precisas de captura, quienes podrán realizar el control de las actividades si así lo estiman conveniente.

QUINTO: El Sr. Schlatter, en calidad de responsable del proyecto deberán entregar un informe, una vez concluidas las labores de terreno, al Departamento de Protección de Recursos Naturalezas del Servicio y a la Dirección Regional

SAG X Región, de las actividades realizadas, resultados obtenidos; debiendo remitir además, copia de los artículos que sean publicados con los datos obtenidos en terreno, incluidos tesis y presentaciones a seminarios.

SEXTO: Todo incumplimiento observado por parte de los interesados a las disposiciones contenidas en las autorizaciones que se les ha otorgado será denunciado al Director Regional del Servicio Agrícola y Ganadero, quien conocerá de estos hechos según lo establece la Ley de Caza.

MARIO LAGOS SUBIABRE
INGENIERO AGRÓNOMO
JEFE DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN
RECURSOS NATURALES RENOVABLES(S)

ANEXO N° 4. Pesos y longitudes obtenidos de cisnes de cuello negro machos (inmaduros y adultos) y hembras (inmaduros y adultos) pertenecientes al santuario de la naturaleza.

Tabla N° 1. Pesos y longitudes de los ejemplares machos inmaduros de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	Peso / Kg	Longitud / cm
21	6	114
22	6	116
28	5.3	108
32	5.3	118
33	5.8	113
34	5.5	103
37	6	110
48	4	105

Tabla N° 2. Pesos y longitudes de los ejemplares machos adultos de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	Peso / Kg	Longitud / cm
4	8	123
8	5.3	106
10	5.4	119
11	5.9	106
13	4.8	108
14	5	104
17	5.25	113
19	7	122
24	5.5	123
27	6.9	110
29	7	121
45	6.4	115
49*	3	106

*Ejemplar con baja condición corporal.

Tabla N° 3. Pesos y longitudes de los ejemplares hembras inmaduras de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

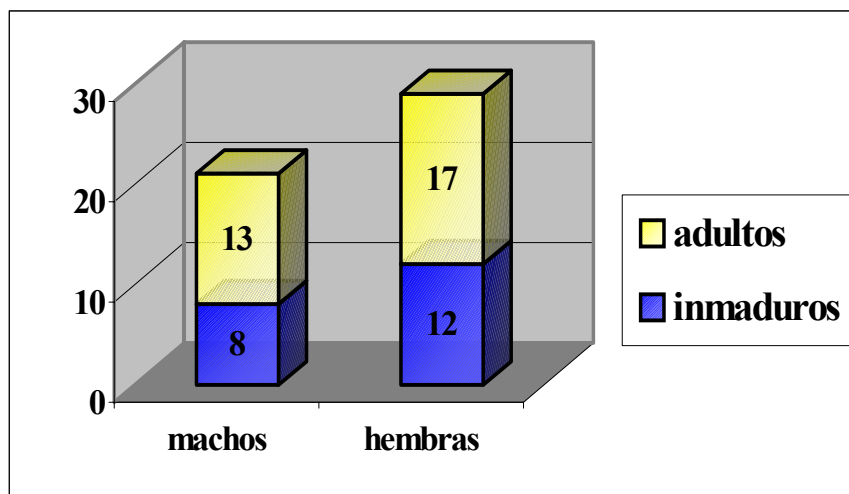
Cisne N°	Peso / Kg	Longitud / cm
1	4.7	95
2	6.6	107
3	4.9	97
5	5.5	106
6	4.9	98
16	4.5	102
20	4.5	99
26	4.7	99
30	4.6	100
43	3.9	101
47	5.5	114
50	4	110

Tabla N° 4. Pesos y longitudes de los ejemplares hembras adultas de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

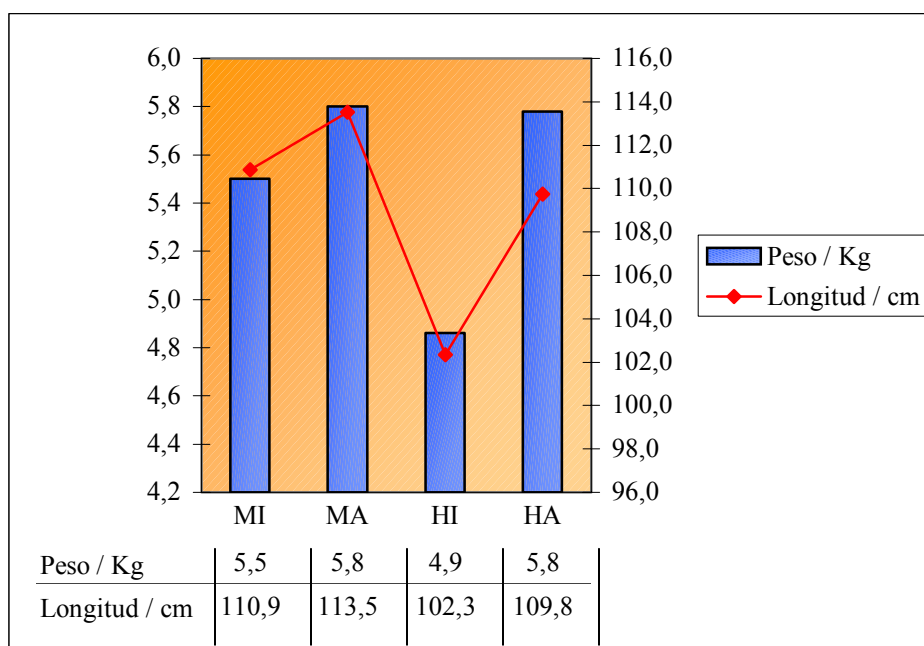
Cisne N°	Peso / Kg	Longitud / cm
7	5.9	107
9	4.9	107
12	4.1	104
15	6.9	122
18	5.9	104
23*	3.7	100
25	4.7	113
31	6	108
35	6.7	113
36	7	108
38	6.1	111
39	6.7	112
40	7.2	110
41	5.5	110
42	5.8	109
44	5.2	120
46	5.9	108

*Ejemplar con baja condición corporal.

ANEXO N° 5. Número de cisnes de cuello negro machos (inmaduros y adultos) y hembras (inmaduras y adultas) capturados en el Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwndter”, Río Cruces Valdivia, Chile.



ANEXO N° 6. Pesos y longitudes promedio de los cisnes de cuello negro machos (inmaduros y adultos) y hembras (inmaduras y adultas) capturados en el Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, Río Cruces Valdivia, Chile.



Machos inmaduros (MI); Machos adultos (MA); Hembras inmaduras (HI); Hembras adultas (HA).

ANEXO N° 7. Valores bioquímicos plasmáticos para AST, ALT, SAP, colesterol, triglicéridos, glucosa, proteínas plasmáticas, albúminas, globulinas, calcio, fósforo y magnesio obtenidos de las muestras sanguíneas analizadas de los cisnes de cuello negro inmaduros y adultos (machos y hembras) pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Tabla N° 1. Valores bioquímicos plasmáticos de AST, ALT, SAP, colesterol, triglicéridos y glucosa obtenidos de los ejemplares machos inmaduros de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	AST U/l	ALT U/l	SAP U/l	Colesterol mmol/l	Triglicéridos mmol/l	Glucosa mmol/l
21	39	61	2240	2,58	1,24	6,38
22	58	69	2450	4,41	1,19	11,75
28	50	31	2940	3,62	1,33	8,05
32	116	78	2130	3,70	1,17	6,36
33	55	93	1650	3,33	1,26	6,43
34	-	-	-	-	-	-
37	35	47	2060	3,38	-	5,96
48	134	77	2780	3,27	0,60	5,75

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 2. Valores bioquímicos plasmáticos de proteínas totales, albúminas, globulinas, Ca, P, Mg obtenidos de los ejemplares machos inmaduros de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	Proteínas g/l	Albúmina g/l	Globulina g/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l
21	43	16	27	2,00	1,93	1,02
22	56	22	34	1,98	2,02	0,92
28	47	19	28	2,13	2,27	0,94
32	46	15	31	1,83	2,29	1,01
33	48	20	28	1,78	2,09	0,84
34	-	-	-	-	-	-
37	57	28	29	3,68	1,79	0,80
48	54	19	35	2,15	2,48	0,89

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 3. Valores bioquímicos plasmáticos de AST, ALT, SAP, colesterol, triglicéridos y glucosa obtenidos de los ejemplares hembras inmaduras de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Chile.

Cisne N°	AST U/l	ALT U/l	SAP U/l	Colesterol mmol/l	Triglicéridos mmol/l	Glucosa mmol/l
1	53	71	1840	2,89	1,24	6,88
2	43	45	2280	2,77	1,19	7,77
3	41	79	1900	2,80	1,27	11,24
5	46	65	2280	1,37	1,37	10,51
6	89	54	2620	2,84	1,19	10,46
16	32	47	1900	4,06	1,15	8,82
20	27	63	2080	2,88	1,69	5,91
26	41	68	2510	3,16	1,55	4,90
30	17	40	2080	3,72	1,64	8,98
43	123	85	2130	4,22	1,44	5,17
47	86	81	2960	2,71	0,76	5,78
50	107	52	-	4,03	2,40	8,27

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 4. Valores bioquímicos plasmáticos de proteínas totales, albúminas, globulinas, Ca, P, Mg obtenidos de los ejemplares hembras inmaduras de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	Proteínas g/l	Albúmina g/l	Globulina g/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l
1	52	20	32	3,02	2,72	1,26
2	52	21	31	2,30	1,67	0,97
3	47	18	29	2,12	1,77	1,03
5	52	21	31	2,16	1,86	1,00
6	54	22	32	2,72	2,00	1,16
16	49	19	30	2,20	2,37	0,94
20	43	17	26	1,84	3,07	1,00
26	43	16	27	1,93	2,77	0,93
30	52	18	34	1,85	1,72	0,88
43	58	21	37	2,07	1,60	0,87
47	59	21	38	2,16	1,84	0,90
50	54	23	31	2,11	1,22	0,80

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 5. Valores bioquímicos plasmáticos de AST, ALT, SAP, colesterol, triglicéridos y glucosa obtenidos de los ejemplares machos adultos de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	AST U/l	ALT U/l	SAP U/l	Colesterol mmol/l	Triglicéridos mmol/l	Glucosa mmol/l
4	29	32	410	2,74	1,13	8,31
8	26	33	330	3,52	1,10	6,38
10	-	-	-	-	-	-
11	100	63	250	3,98	0,74	9,14
13	46	50	-	3,79	1,08	5,57
14	104	63	-	3,24	0,90	9,25
17	31	34	560	3,17	0,98	8,55
19	111	37	250	2,32	1,07	4,94
24	39	46	440	3,82	1,08	10,41
27	18	37	210	2,41	1,26	7,25
29	24	32	200	3,52	1,27	9,16
45	33	51	250	3,34	2,09	6,57
49	90	79	510	3,71	0,50	7,84

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 6. Valores bioquímicos plasmáticos de proteínas totales, albúminas, globulinas, Ca, P, Mg obtenidos de los ejemplares machos adultos de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Chile.

Cisne N°	Proteínas g/l	Albúmina g/l	Globulina g/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l
4	55	22	33	2,38	0,80	1,16
8	53	20	33	2,56	1,05	1,28
10	-	-	-	-	-	-
11	51	18	33	1,90	0,68	1,11
13	46	17	29	2,17	2,02	1,02
14	52	21	31	2,02	2,56	0,86
17	52	21	31	2,06	1,32	0,94
19	45	18	27	1,86	1,06	1,08
24	51	19	32	1,81	1,07	0,76
27	49	15	34	1,79	1,09	0,95
29	49	18	31	1,70	0,92	0,77
45	49	18	31	1,73	0,73	1,02
49	69	27	42	2,13	1,20	0,84

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 7. Valores bioquímicos plasmáticos de AST, ALT, SAP, colesterol, triglicéridos y glucosa obtenidos de las ejemplares hembras adultas de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	AST U/l	ALT U/l	SAP U/l	Colesterol mmol/l	Triglicéridos mmol/l	Glucosa mmol/l
7	58	36	710	3,13	1,03	8,63
9	12	17	200	2,82	0,68	8,54
12	26	34	560	2,49	0,80	9,79
15	37	26	330	2,79	1,99	6,62
18	22	31	300	3,34	0,95	5,68
23	74	52	380	2,82	1,00	5,74
25	32	42	320	2,52	0,83	6,53
31	60	23	180	3,18	2,01	8,15
35	-	-	-	-	-	-
36	-	-	910	2,19	6,22	7,20
38	30	71	-	-	-	5,34
39	27	41	-	-	-	8,78
40	28	32	930	3,93	3,86	6,27
41	54	32	330	3,29	1,23	6,67
42	27	67	-	-	-	7,48
44	26	37	270	3,78	0,75	4,65
46	55	67	250	2,95	1,83	5,22

(-) Valores aberrantes.

Tabla N° 8. Valores bioquímicos plasmáticos de proteínas totales, albúminas, globulinas, Ca, P, Mg obtenidos de los ejemplares adultos hembras de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*), pertenecientes al Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”, Valdivia, Chile.

Cisne N°	Proteínas g/l	Albúmina g/l	Globulina g/l	Ca mmol/l	P mmol/l	Mg mmol/l
7	55	19	36	2,18	0,65	0,96
9	55	19	36	2,23	0,62	0,93
12	51	17	34	1,86	0,89	0,88
15	45	16	29	1,98	0,91	0,80
18	50	15	35	1,92	1,47	1,07
23	55	18	37	1,77	1,50	1,05
25	39	15	24	1,90	1,31	0,73
31	47	16	31	1,59	1,81	1,00
35	-	-	-	-	-	-
36	60	32	28	3,09	1,56	1,08
38	68	26	42	3,09	1,89	0,89
39	57	20	37	2,61	1,80	0,87
40	57	21	36	3,01	1,22	1,09
41	45	16	29	1,95	1,28	0,83
42	73	29	44	3,31	1,51	0,92
44	49	18	31	1,81	0,49	0,88
46	67	24	43	1,90	0,74	0,85

(-) Valores aberrantes.

ANEXO N° 8. Valores promedios y desviaciones estándar utilizadas como referencias para los valores de AST, ALT, SAP, colesterol, triglicéridos, glucosa, proteínas totales, albúminas, globulinas, calcio, fósforo y magnesio obtenidos en el presente estudio.

Tabla N° 1. Valores encontrados para AST en U/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	Autor
<i>Columba livia domestica</i> ¹	adultos	40	42,0	14,4	Scope y col., 2002.

1- HITACHI 911(Roche diagnostic Austri Viena with reagent test kit by Roche), analizada a 37° C los reportes de actividad enzimática son calculados para 25°C de acuerdo con los métodos de aplicación del manual a-ketaglutarato MDH NAD Roche n° 816337.

Tabla N° 2. Valores encontrados para ALT en U/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	Autor
<i>Neophron percnopterus</i> ¹	adultos	24	12,5	0,9	Dell'omo y col., 1996

1- Analizador automático (technicon RA 1000), a 37°C.

Tabla N° 3. Valores encontrados para SAP en U/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Cygnus buccinator</i> ¹	juveniles	6	19	46	Olsen y col., 2002
<i>Tetrao urogallus</i> ²	juveniles	6	451	189	Lavin y col., 1992
<i>Tetrao urogallus</i> ²	adultos	9	144	56	Lavin y col., 1992
<i>Vultur gryphus</i> ³	adultos	14	228	75	Toro y col., 1997
<i>Ara militaris</i> ⁴	adutlos	16	76	44	Polo y col., 1998
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁵	adutlos	20	72	43	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ⁵	adutlos	10	78	44	Gee y col., 1981

1- Du pont Analyst benchtop chemistry system (Du pont company wilmington, DE).

2- Kovas Bio Roche.

3- Boehringer, Manneheim, Merck, Darmstadt, Hycel, Houston.

4- Fosfatasa alcalina B 7917 Menagent, Menarini.

5- Reacción de timoftaleinamonofosfato.

Tabla N° 4. Valores encontrados para Colesterol en mmol/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E	
Red Lories (<i>Eos spp</i>) ²	juv y adul	40	6,01	1,30	Scope y col., 2000
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ³	adultos	20	4,46	0,60	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ³	adultos	10	3,42	0,31	Gee y col., 1981
<i>Branta sandvicensis</i> ³	adultos	17	6,01	0,70	Gee y col., 1981
<i>Anser domesticus</i> ³	adultos	20	3,76	1,84	Gee y col., 1981
<i>Colinus virginianus ridgwayi</i> ³	adultos	10	4,25	0,36	Gee y col., 1981
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁴	adultos	-	4,46	0.72	Carpenter y col., 2001

1- Método enzimático CHOD – PAD, empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 10019.

2- Método enzimático CHOD-PAP Boehringer Mannheim n° 2016630.

3- Método enzimático.

4- No se especifica la técnica.

Tabla N° 5. Valores encontrados para Triglicéridos en mmol/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E	autor
Red Lories (<i>Eos spp</i>) ¹	juv y adul	37	1,96	0,90	scope y col., 2000
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ²	adultos	20	1,96	0,36	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ²	adultos	10	2,80	0,66	Gee y col., 1981
<i>Branta sandvicensis</i> ²	adultos	17	2,12	0,55	Gee y col., 1981
<i>Colinus virginianus ridgwayi</i> ²	adultos	10	2,03	0,21	Gee y col., 1981

1- GPO-PAP. Test kit: Triglicérido Boehringer Mannheim n° 2016648.

2- Método enzimático.

Tabla N° 6. Valores encontrados para Glucosa en mmol/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Cygnus buccinator</i> ¹	juveniles	6	7,47	0,89	Olsen y col., 2002
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ²	adultos	20	12,38	2,11	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ²	adultos	10	12,88	1,72	Gee y col., 1981
<i>Branta sandvicensis</i> ²	adultos	17	12,88	1,50	Gee y col., 1981
<i>Anser domesticus</i> ²	adultos	25	12,32	2,11	Gee y col., 1981
<i>Colinus virginianus ridgwayi</i> ²	adultos	10	19,20	1,72	Gee y col., 1981
<i>Gallus gallus gallus</i> ³	adultos	10	14,20	2,19	Balasz y col., 1973
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁴	adultos	-	11,66	1.72	Carpenter y col., 2001

- 1- Du pont Analyst benchtop chemistry system (Du pont company wilmington, DE).
- 2- Glucosa oxidasa peroxidasa.
- 3- Glucosa oxidasa.
- 4- No se especifica la técnica.

Tabla N° 7. Valores encontrados para Proteínas totales en g/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Cygnus buccinator</i> ¹	juveniles	6	32,0	2,0	Olsen y col., 2002
<i>Columba livia domestica</i> ²	adultos	40	27,1	9,0	Scope y col., 2002
Red Lories (<i>Eos spp</i>) ³	juv y adul	40	28,0	4,0	Scope y col., 2000
<i>Spheniscus humboldti</i> ⁴	adultos	14	61,6	8,1	Villouta y col., 1997
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁴	adultos	20	48,0	7,0	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ⁴	adultos	10	44,0	4,0	Gee y col., 1981
<i>Branta sandvicensis</i> ⁴	adultos	17	44,0	7,0	Gee y col., 1981
<i>Anser domesticus</i> ⁴	adultos	25	44,0	10,0	Gee y col., 1981
<i>Colinus virginianus ridgwayi</i> ⁴	adultos	10	38,0	2,0	Gee y col., 1981
<i>Gallus gallus gallus</i> ⁵	adultos	10	46,0	3,8	Balasz y col., 1973
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁶	adultos	-	48,0	7,0	Carpenter y col., 2001

- 1- Du pont Analyst benchtop chemistry system (Du pont company wilmington, DE).
- 2- Autoanalizador HITACHI 911 método biuret Roche 1553836.
- 3- Autoanalizador Hitachi 904 (Boehringer Mannheim, Mannheim ;Germany) método biuret Roche 1553836.
- 4- Método de biuret.
- 5- No se especifica la técnica.

Tabla N° 8. Valores encontrados para Albúminas en g/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
Red Lories (<i>Eos spp</i>) ¹	juv y adul	40	11,0	3,0	Scope y col., 2000
<i>Spheniscus huva +mboldti</i> ²	adultos	14	23,4	7,7	Villouta y col., 1997
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ²	adultos	20	20,0	2,0	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ²	adultos	10	17,0	2,0	Gee y col., 1981
<i>Branta sandvicensis</i> ²	adultos	17	18,0	3,0	Gee y col., 1981
<i>Anser domesticus</i> ²	adultos	25	17,0	6,0	Gee y col., 1981
<i>Colinus virginianus ridgwayi</i> ²	adultos	10	20,0	2,0	Gee y col., 1981
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ³	adultos	-	21,0	2,0	Carpenter y col., 2001

- 1- Prueba colorimétrica fotométrica por el método BCG (Verde de Bromocresol), empleando reactivo del laboratorio Human, Artículo N° 10560.
- 2- Verde de bromocresol (BCG) Boehringer Mannheim n° 1040782.
- 3- Verde de bromocresol.

Tabla N° 9. Valores encontrados para Globulinas en g/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Spheniscus humboldti</i> ¹	adultos	14	38,2	6,5	Villouta y col., 1997
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ¹	adultos	20	28,0	6,0	Gee y col., 1981
<i>Anser albifrons gambelli</i> ¹	adultos	10	27,0	3,0	Gee y col., 1981
<i>Branta sandvicensis</i> ¹	adultos	17	26,0	5,0	Gee y col., 1981
<i>Colinus virginianus ridgwayi</i> ¹	adultos	10	18,0	1,0	Gee y col., 1981
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ²	adultos	-	28,0	6,0	Carpenter y col., 2001

1- Diferencia entre proteínas totales y albúminas.

2- No se especifica la técnica.

Tabla N° 10. Valores encontrados para Calcio en mmol/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Cygnus buccinator</i> ¹	juveniles	14	2,00	0,20	Olsen y col., 2002
Red Lories (<i>Eos spp</i>) ²	juv y adul	35	8,00	0,80	Scope y col., 2000
<i>Phoenicopterus ruber ruber</i> ³	adultos	15	2,90	0,40	Peinado y col., 1992
<i>Phoenicopterus ruber roseus</i> ³	adultos	7	3,40	0,60	Peinado y col., 1992
<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i> ⁴	adultos	7	2,20	0,40	Polo y col., 1998
<i>Ara chloroptera</i> ⁴	adultos	8	2,30	0,30	Polo y col., 1998
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁵	adultos	-	2,55	0,17	Carpenter y col., 2001

1- Du pont Analyst benchtop chemistry system(Du pont company wilmington, DE).

2- O-cresolftaleina-complexona. Boehringer Mannheim n° 1489216.

3- Inductively coupled plasma (ICP espectrofotometro Jobin Yvon-JY-38 VHR, ISA instruments, Division Jobin Ivon, 16-18 rue du canal Longjumeau, Cédex, France).

4- Inductibly coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES).

5- No se especifica la técnica.

Tabla N° 11. Valores encontrados para Fósforo en mmol/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Phoenicopterus ruber ruber</i> ¹	adultos	15	13,90	1,50	Peinado y col., 1992
<i>Phoenicopterus ruber roseus</i> ¹	adultos	7	12,60	0,90	Peinado y col., 1992
<i>Phoenicopterus chiliensis</i> ¹	adultos	32	11,70	1,80	Peinado y col., 1992
Red Lories (<i>Eos spp</i>) ²	juv y adul	40	0,71	0,36	Scope y col., 2000
<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i> ³	adultos	7	3,0	0,40	Polo y col., 1998
<i>Ara chloroptera</i> ³	adultos	8	4,1	1,20	Polo y col., 1998
<i>Branta canadensis leucopareia</i> ⁴	adultos	-	11,66	1.72	Carpenter y col., 2001

1- Inductively coupled plasma (ICP espectrofotometro Jobin Yvon-JY-38 VHR, ISA instruments, Division Jobin Ivon, 16-18 rue du canal Longiumeau, Cèdex, France).

2- Molibdato, fósforo inorgánico Boehringer Mannheim n° 1489348.

3- Inductibly coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES).

4- No se especifica la técnica.

Tabla N° 12. Valores encontrados para Magnesio en mmol/l, en la literatura.

Especie	edad	n	Media	D.E.	autor
<i>Phoenicopterus ruber ruber</i> ¹	adultos	15	1,00	0,30	Peinado y col., 1992
<i>Phoenicopterus ruber roseus</i> ¹	adultos	7	1,00	0,10	Peinado y col., 1992
<i>Phoenicopterus chiliensis</i> ¹	adultos	32	1,10	0,30	Peinado y col., 1992
<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i> ²	adultos	7	1,20	0,50	Polo y col., 1998
<i>Ara chloroptera</i> ²	adultos	8	1,30	0,50	Polo y col., 1998

1- Espectrofotometría de absorción atómica utilizando un EAA- Perkin Elmer 4280. Para ello las muestras fueron diluidas 1:50 en LaCl 3 al 0.1 %.

2- Inductively coupled plasma (ICP espectrofotometro Jobin Yvon-JY-38 VHR, ISA instruments, Division Jobin Ivon, 16-18 rue du canal Longiumeau, Cèdex, France).

3- Inductibly coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES).

9. AGRADECIMIENTOS

Muchas veces el realizar estudios dirigidos a la fauna silvestre es difícil, esto radica principalmente en que esta área no entrega grandes beneficios económicos, y lamentablemente son pocas las personas que consideran los beneficios científicos de estas investigaciones. Es por eso que quiero agradecer a todos aquellos que hicieron posible hacer este trabajo y en especial:

A mi toda mi familia ya que siempre han estado conmigo, en especial a mis padres y mis hermanos por el apoyo que día a día me han brindado.

Al **Dr. Fernando Wittwer** y al **Dr. Roberto Schlatter**, quienes me apoyaron durante toda la realización de este trabajo, tanto en la parte económica como en lo académico.

Al **Dr. Josef Kösters** por toda su colaboración y dedicación durante el desarrollo de este trabajo

A todo el personal del laboratorio de patología clínica, en especial a la **Sra. Helga Böhmwald** por su gran disposición para realizar todos los análisis de laboratorio que fueron requeridos.

Al Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) y a la Corporación Nacional Forestal (CONAF) por facilitarnos los premisos necesarios para realizar las capturas de los ejemplares requeridos, y en especial al **Sr. Luis Miranda** y el **Sr. Roberto Rosas** por ayudarnos a realizar las capturas durante todas las salidas a terreno.

Y a todos mis amigos, quienes siempre estuvieron apoyándome incondicionalmente.