



**Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Programa de Magíster en Ciencias con mención en Zoología**

**Evaluación de estrés y condición en pingüinos
Pygoscelidos, a través de la relación H/L y parámetros
asociados a condición**

Tesis para optar al grado de
Magíster en Ciencias con mención en Zoología

Por: María Fernanda González Moraga
Profesor guía: Daniel González Acuña
Departamento de Zoología,
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas
Universidad de Concepción

Junio 2020
Concepción, Chile.

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
<i>Relación H/L como estimador de estrés</i>	4
<i>Estrés y condición</i>	7
<i>Parámetros indicadores de condición</i>	9
Ecosistema antártico	14
<i>Pingüinos Pygoscelidos</i>	20
METODOLOGÍA	25
<i>Área de estudio.</i>	25
<i>Análisis de laboratorio.</i>	37
<i>Análisis de datos.</i>	38
RESULTADOS	41
DISCUSIÓN.....	55
AGRADECIMIENTOS.....	68
LITERATURA CITADA.....	69
ANEXOS:	92
<i>Anexo 1:</i>	92
<i>Anexo 2:</i>	93
RESUMEN.....	93
ABSTRACT.....	94
INTRODUCCIÓN.....	95
METODOLOGÍA	98
RESULTADOS	100
DISCUSIÓN.....	102
LITERATURA CITADA.....	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama simplificado de la cadena trófica del ecosistema antártico.	18
Figura 2. Base Bernardo O'Higgins, Islote Isabel Riquelme. Fuente: Daniel González-Acuña.	26
Figura 3. Colonia de pingüinos Papúa en islote Isabel Riquelme (Base B. O'Higgins), sitio de nidificación. Fuente: Daniel González-Acuña.....	27
Figura 4. Isla Kopaitic, sitio de nidificación. Fuente: Daniel González-Acuña	28
Figura 5. Base Gabriel González Videla, Bahía Paraíso. Fuente: Foto modificada de INACH	29
Figura 6. Punta Narebsky, Islas Shetland del Sur. Fuente: Daniel González-Acuña.....	30
Figura 7. Punta Narebsky, península Barton, Isla Rey Jorge. Fuente: Daniel González-Acuña	32
Figura 8. Istmo de península Ardley. Fuente: Peter <i>et al.</i> 2005.	34
Figura 9. Colonia de <i>Pygoscelis papua</i> en península Ardley	35
Figura 10. Mapa de la península Antártica. Fuente: modificado de Google Earth	36
Figura 11. Mediana (M), máxima (Max) y mínima (Mín.) del parámetro H/L obtenido de ejemplares de <i>Pygoscelis antarctica</i> pertenecientes a tres localidades de la Antártica. Se muestran dos grupos de muestreo Pb-BOSH que reúne ejemplares de Cabo Shirreff y base B. O'Higgins.....	42
Figura 12. Mediana (M), máxima (Max) y mínima (Mín.) del parámetro H/L obtenido de ejemplares de <i>Pygoscelis adeliae</i> pertenecientes a dos localidades de la Antártica. Se muestran dos grupos de muestreo Pa-ARD que reúne ejemplares de península Ardley y el grupo Pa-BO que reúne ejemplares de base Bernardo O'Higgins.....	43
Figura 13. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (Prin.1) y componente principal 2 (Prin.2). Grupo Pp.	45
Figura 14. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (Prin.1) y 2 (Prin.2). GrupoPb- SHBO.....	47
Figura 15. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (Prin.1), 2 (Prin.2) y 3 (Prin.3). GrupoPb- PN.	49
Figura 16. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (Prin.1), 2 (Prin.2) y 3 (Prin.3). Grupo Pa-ARD.....	51
Figura 17. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (Prin.1), 2 (Prin.2) y 3 (Prin.3). Grupo Pa-BO.	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de bibliografía que reporta niveles de H/L en aves de distintas especies. Fuente: Elaboración propia.....	5
Tabla 2. Resumen de la estadística descriptiva de cada grupo conformado en relación al parámetro H/L.....	41
Tabla 3. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pp. En rojo se destacan las componentes y parámetros seleccionados.	44
Tabla 4. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pp. En negrita se destacan los autovectores seleccionados.....	44
Tabla 5. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pb-SHBO. En negrita se destacan las componentes y parámetros seleccionados.	46
Tabla 6. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pp. En negrita se destacan los autovectores seleccionados.....	46
Tabla 7. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pb-PN. En negrita se destacan las componentes y parámetros seleccionados.	48
Tabla 8. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pb-PN. En negrita se destacan los autovectores seleccionados.....	48
Tabla 9. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pa-ARD. En negrita se destacan las componentes y parámetros seleccionados.....	50
Tabla 10. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pa-ARD. En negrita se destacan los autovectores seleccionados.....	50
Tabla 11. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pa-BO. En negrita se destacan las componentes y parámetros seleccionados.	52
Tabla 12. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pa-BO. En negrita se destacan los autovectores seleccionados.....	52
Tabla 13. Estadística descriptiva e intervalos de referencia de parámetros complementarios de los cinco grupos muestreados.	54
Tabla 14. Estadística descriptiva de parámetros H/L, VG, RLT, P, L e ICC en pingüinos Papúa adultos machos y hembras	100

RESUMEN

Evaluar el estrés y la condición de pingüinos Antárticos es una tarea relevante para comprender su respuesta a los cambios del medio en que viven. Un método usado en vertebrados como indicador de estrés es la relación heterófilo/linfocito (H/L). Si bien este parámetro es de utilidad para determinar condición, no es suficiente. Otros parámetros que pueden sumarse a fin de evaluar íntegramente la condición. Se determinó el nivel de estrés y la condición en pingüinos del género *Pygoscelis*, pertenecientes a la Península Antártica e islas sub-antárticas. Se evaluaron 5 grupos de pingüinos pygoscelidos; Grupo Pp compuestos por ejemplares de pingüinos Papúa de tres localidades pertenecientes a la península e islas antárticas, grupo Pa-ARD compuesto por ejemplares de pingüinos Adelia de península Ardley, grupo Pa-BO pingüinos de la misma especie pero pertenecientes a la Base B. O'Higgins, grupo Pb- SHBO compuesto por ejemplares de pingüinos Barbijo pertenecientes a Cabo Shirreff y Base B. O'Higgins, finalmente grupo Pb- PN compuesto por la misma especie de pingüinos pertenecientes a Punta Narebsky. El nivel de estrés de especies y grupos se determinó a través del parámetro H/L, comparado entre grupos a través de la prueba de Wilcoxon. Se analizaron parámetros asociados a condición a fin de dilucidar cuales de estos podían aportar más información respecto de la misma, estos fueron: Volumen globular (VG), Recuento leucocitario total (RLT), Proteínas plasmáticas totales (PPT), Peso (P), Largo (L) e Índice de condición corporal (ICC). Estos fueron sometidos a un análisis de componentes principales (ACP) en cada uno de los cinco grupos. Las componentes seleccionadas en cada grupo según el criterio de Káiser, fueron sometidas a una prueba de Spearman para evaluar su correlación con el parámetro H/L. Los niveles promedios del parámetro H/L fueron mayores en los grupos Pb-PN y Pa-BO, seguido del grupo Pp, y finalmente de los grupos Pa-ARD y Pb-SHBO. El ACP de cada grupo mostró que los parámetros P, ICC, VG

y RLT contribuían en un alto porcentaje a la variabilidad de H/L, aunque no en todos los grupos la relación fue significativa. El parámetro H/L debe complementarse con factores de tipo hematológico, nutricional, físico e incluso reproductivo para dilucidar la cronicidad de la respuesta al estrés y su efecto en la condición de los pingüinos.

Palabras clave: Heterofilo, Linfocito, Condición, Estrés, Pygoscelidos

ABSTRACT

Assessing the stress and condition of Antarctic penguins is a relevant task to understand their response to changes in the environment in which they live. One method used in vertebrates as an indicator of stress is the heterophile/lymphocyte (H/L) ratio. This parameter is useful for determining condition, but is not enough, there are other parameters that can be added in order to fully assess the condition. It was determined the stress level and condition of the *Pygoscelis* penguins belonging to the Antarctic and sub-Antarctic islands. Five groups of pygocelid penguins were evaluated; Pp group composed of specimens of Papua penguins from three locations belonging to the peninsula and Antarctic islands, Pa-ARD group consisting of specimens of Adelia penguins from the Ardley peninsula, Pa-BO group penguins of the same species but belonging to Base B. O'Higgins, Pb-SHBO group composed of specimens of Barbijo penguins belonging to Cabo Shirreff and Base B. O'Higgins, and Pb-PN group composed of the same species of penguins belonging to Punta Narebsky. The stress level of species and groups was determined through the H/L parameter, compared between groups through the Wilcoxon test. Parameters associated to the condition were analyzed in order to elucidate which of these could provide more information regarding the same, these were: Globular volume (GV), Total leukocyte count (TLR), Total plasma proteins (TPP), Body condition index (BCI), Weight (W) and Length (L). These

were subjected to a principal component analysis (PCA) in each of the five groups. The components selected in each group according to the Kaiser criteria were subjected to a spearman test to assess their correlation with the H/L parameter. The average levels of the H/L parameter were higher in the Pb-PN and Pa-BO groups, followed by the Pp group, and finally the Pa-ARD and Pb-SHBO groups. The ACP of each group showed that the parameters P, ICC, VG and RLT contributed a high percentage to the variability of H/L, although not in all groups the relationship was significant. The H/L parameter must be complemented with hematological, nutritional, physical and even reproductive factors to elucidate the chronicity of the stress response and its effect on the condition of the penguins.

Keywords: Heterophil, Lymphocyte, Condition, Stress, Pygoscelidos



INTRODUCCIÓN

El término estrés ha sido ampliamente usado en el campo de la fisiología humana y animal, a pesar de que su significado no es unívoco (posee más de un significado) (Romero *et al.* 2012). La palabra estrés es aún usada para referirse tanto a la fuente, como a la respuesta y el estado de desbalance crónico que puede producir un estímulo potencialmente nocivo, por tanto cualquier enunciado que utilice el término estrés, como en el caso de la presente investigación puede llevar a confuciones, si no se puntualiza previamente el significado que se le está asignando (Sterling & Eyer 1988).

Hans Selye en 1976 define la palabra estrés desde un punto de vista evolutivo, como el mecanismo adaptativo mediante el cual los seres vivos son capaces de responder a los cambios ambientales inesperados de forma rápida y efectiva. Paralelamente introduce los conceptos de “eustress” y “distress” para indicar dos desenlaces diferentes de este mecanismo de respuesta (Selye 1976; Moberg & Mench 2000). Estos dos términos derivados se aplican al estudio de estrés en humanos, ya que se describe el término eustress como el mecanismo saludable mediante el cual los seres vivos responden a los estímulos potencialmente nocivos que se asocian a sentimientos o pensamientos positivos por parte de quien lo experimenta (Selye 1976; Lazarus 1993; Quick *et al.* 1997). Por su parte, el término distress se refiere a una respuesta no saludable ante un estímulo potencialmente nocivo, que se asocia a la experimentación de malestar emocional (Selye 1976). Si bien, esta terminología posee un componente cognitivo-emocional que no aplica a la fauna silvestre, si resulta útil la distinción que se hace entre dos resultados diferentes en la respuesta a un estresor.

En otros organismos animales, el estudio del estrés, sus re-definiciones y nuevos términos, han podido extrapolarse desde la medicina humana (Scherck 2010). Así, se

define eustress como la respuesta desencadenada por perturbaciones que causan bajos niveles de estrés, con elevaciones de cortisol moderado, que tienen un efecto neto positivo sobre la capacidad de la respuesta inmune (Dhabbar & McEwen 2001; Dhabbar 2008; Schreck 2010). En el sentido opuesto, el término distress es definido como la respuesta desencadenada por perturbación que producen altos niveles de estrés, es decir niveles elevados de cortisol (por sobre los niveles experimentados en el eustress), que si bien en algún momento pudieron tener efectos positivos sobre la respuesta inmune, finalmente lleva al agotamiento y consiguiente inmunosupresión (Schreck & Tort 2016).

En la actualidad existen nuevos términos, al menos en el área de la fisiología y endocrinología, que buscan precisar el significado de un fenómeno y diferenciarlo de sus consecuencias, a la vez que incorporan el concepto de homeostasis, que muchas veces se ve relegado al hablar de estrés (Sterling & Eyer 1988; McEwen & Wingfield 2003; McEwen & Wingfield 2010).

La palabra alostasis fue presentada en 1988 por Sterling y Eyer en el marco de la investigación del estrés en humanos. En 2003 McEwen y Wingfield, crean el modelo alostático, aplicable a la ecología, que busca precisar distintas etapas de la respuesta al estrés a través de nuevas terminologías. Este modelo establece que las “perturbaciones” o “estresores” son los desencadenantes de una respuesta, es decir, estímulos que el organismo interpreta, a nivel fisiológico como potencialmente nocivos (McEwen & Wingfield 2003; Herring & Gawlik 2007). A su vez el estresor amenaza la “homeostasis”, es decir, la estabilidad de los sistemas fisiológicos que aseguran la supervivencia (Carstens & Mober 2000). El modelo alostático define que el proceso que mantiene la homeostasis aún bajo el afecto de un estresor, es llamado “alostasis”. (McEwen & Wingfield 2003; McEwen & Wingfield 2010).

Los niveles de glucocorticoides, y en el caso de las aves específicamente la corticosterona (CORT), cambian significativamente ante estímulos potencialmente nocivos o perturbaciones que son percibidas por la corteza cerebral, enviándose una señal nerviosa al hipotálamo, que activa la glándula pituitaria, la cual envía una última señal a las glándulas adrenales que liberan corticosterona (CORT) al torrente sanguíneo (Herring & Gawlik 2007). El alza en la secreción de CORT favorece la gluconeogénesis e inhibe procesos que no son esenciales para la sobrevivencia inmediata, lo que se conoce como estado alostático, el cual sólo puede mantenerse por períodos limitados de tiempo antes de comprometer las reservas energéticas del organismo (Blas 2015). La cantidad de energía y nutrientes que el organismo necesita para llevar a cabo funciones que le permitan seguir su ciclo normal de vida y a su vez, sobreponerse a eventos impredecibles y potencialmente nocivos, es definido como carga alostática (McEwen & Wingfield 2003). Cuando la carga alostática no es cubierta por la cantidad de energía que el organismo gana a través de la alimentación, tiene lugar la sobrecarga alostática (McEwen & Wingfield 2003). Existen dos tipos de sobrecargas alostáticas: la tipo I es un estado transicional (corta duración), después del cual el individuo puede restablecer su homeostasis y reservas energéticas; y tipo II en que la sobrecarga alostática se mantiene volviéndose crónica resultando normalmente en estados patológicos e inclusive la muerte (McEwen & Wingfield 2003; Blas 2015).

Si bien el modelo alostático ha permitido puntualizar ciertos procesos a través de nuevos conceptos, hasta ahora se ha mantenido como un paradigma teórico debido a la dificultad de establecer, en animales de vida libre, la disponibilidad y pérdida energética (Blas 2015). Sin embargo, el modelo es práctico porque permite puntualizar etapas como el estado alostático, es decir el estado en que el organismo experimenta un alza de CORT a nivel sanguíneo (Herring & Gawlik 2007). Este paso toma alrededor

de 3 a 5 min post exposición a la perturbación, registrándose un incremento de la cantidad de CORT plasmática al cabo de este tiempo (Romero 2009).

A nivel de células sanguíneas, se describe que tanto linfocitos como heterófilos (y también neutrófilos), por ser los principales leucocitos fagocíticos, responden al alza de corticoesteroides (Campbell 1994). Cuando existe estrés, el CORT liberado induce una redistribución de las células sanguíneas, los linfocitos por ejemplo, son llevados por quimiotaxis, desde la sangre hacia los tejidos, mientras que el flujo de neutrófilos desde la médula ósea a la sangre es estimulado, en consecuencia el número de heterófilos circulantes aumenta (heterofilia), a la vez que el número de linfocitos circulantes disminuye (linfopenia), cambio que se hace evidente a nivel sanguíneo una a dos horas post exposición al agente estresor y se mantiene en la medida que el estrés no cese (Davis *et al.* 2008). En base a este cambio, es que la relación de heterófilos/linfocitos (H/L) ha sido ampliamente utilizada como un método de medición de estrés, resultando ser bastante eficiente dado que no se ve afectado por la manipulación inmediata del animal como el CORT (Tejeda *et al.* 1997; Sandoval *et al.* 2003).

RELACIÓN H/L COMO ESTIMADOR DE ESTRÉS

Dentro de los leucocitos presentes en aves encontramos los granulocitos y agranulocitos, los primeros corresponden a los basófilos, eosinófilos y heterófilos, mientras que dentro de los segundos se encuentran los monocitos y linfocitos. Los basófilos son células redondas con pocos gránulos citoplasmáticos, cuya función principal es la liberación de histamina (Campbell 1994). Los eosinófilos tienen como principal función la defensa frente a parásitos y también actúan en reacciones alérgicas (Gálvez *et al.* 2009). Los heterófilos son un tipo de granulocito homólogo a neutrófilos en mamíferos, cuya función es ser la primera línea de defensa ante procesos

infecciosos, inflamación, malnutrición y cualquier fuente de perturbación (Maxwell & Robertson 1998). Los monocitos son macrófagos específicos de la sangre cuya función es fagocitar (Abbas *et al.* 2015). Los linfocitos por su parte responden, en forma similar a los heterófilos, aunque más tardíamente (Roitt *et al.* 2011). Cuando existe una respuesta a un estímulo, tanto heterófilos como linfocitos, responden a un alza de glucocorticoides, aumentando el número de heterófilos y disminuyendo el de linfocitos (Davis *et al.* 2008). Esta respuesta, característica y transversal en los vertebrados, ha hecho que la proporción H/L haya sido ampliamente utilizada, siendo considerada una forma confiable de medir la respuesta al estrés causado por diferentes estímulos (Dhabhar *et al.* 1995; Kranendonk *et al.* 2005; Owen & Moore 2006; Davis *et al.* 2008; Mallory *et al.* 2015).

La relación H/L se obtiene dividiendo el número de heterófilos entre el número de linfocitos (Sandoval *et al.* 2003). En el caso de las aves, los primeros estudios de este tipo comenzaron a realizarse en pollos de engorda (Gross & Siegel 1983). Muchas de estas investigaciones lograron dilucidar cómo y en qué magnitud distintos agentes estresores propiciaban respuestas en estas aves, esto gracias a que las perturbaciones podían ser controladas, de modo que los estudios eran principalmente del tipo caso-control (Davis *et al.* 2000; Elston *et al.* 2000; Onbasilar & Aksoy 2005). Los estudios de aves que evalúan estrés a través del parámetro H/L, comparando grupos control y grupos sometidos a alguna perturbación extra (que se muestran en la Tabla 1), permiten mostrar la respuesta del parámetro H/L, tanto en aves de producción (donde se utilizó primero este parámetro), como en dos especies de vida libre, donde la literatura para este tipo de estudios es mucho más escasa, debido a la dificultad de manejar las perturbaciones (Davis *et al.* 2004; Blas *et al.* 2015).

Tabla 1. Estudios caso/control que reportan niveles de H/L en aves de distintas especies. Fuente: Elaboración propia.

Especie	Nº individuos analizados	H/L en respuesta a estímulo	H/L en ausencia de estímulo	Estímulo	Autor
<i>Gallus gallus domesticus</i>	180	1,14	0,51	Restricción alimentaria	Azis 2012
<i>Gallus domesticus</i>	23	3	0,56	Estrés social	Gross & Siegel 1983
<i>Anser anser</i>	8	4,8	1,2	Separación de parejas	Ludwig <i>et al.</i> 2017
<i>Zenaida macroura</i>	80	2,3	1,3	Implantación chip	Schulz <i>et al.</i> 1998
<i>Carpodacus mexicanus</i>	297	0,15	0,08	Enfermedad	Davis <i>et al.</i> 2004

Con la evidencia recolectada en aves de producción, los estudios que utilizaban H/L como estimador de estrés comenzaron también a aplicarse en distintas especies de aves silvestres en cautiverio y vida libre (Davis *et al.* 2008). En aves Passeriformes, se describe que los valores de H/L se incrementan ante agentes estresores como rutas migratorias largas, transporte, presencia de parásitos, contaminación radioactiva, entre otros (Parga *et al.* 2001; Davis *et al.* 2004; Groombridge *et al.* 2004). En la tórtola Rabiche (*Zenaida macroura*), se demostró que aquellas que poseían dispositivos celómicos de rastreo presentaban valores significativamente mayores de H/L en comparación con grupos control sin dispositivos (Schulz *et al.* 1998). Otro estudio en esta misma especie mostró que al exponer a estas aves a semillas presumiblemente tóxicas, los niveles de H/L sanguíneo de aves que se alimentaron de semilla doblaron los valores de H/L del grupo control, en aproximadamente una semana post ingesta (Schulz *et al.* 2006). Ludwig *et al.* (2017) evaluó como cambiaba el H/L en gansos comunes de vida libre (*Anser anser*) antes y después de ser separados de sus parejas reproductivas por 48 horas, encontrándose valores significativamente mayores de H/L

post separación en el caso de los machos y también en hembras, aunque no significativamente. En aves de la especie *Carpodacus mexicanus*, se logró establecer que de un total de 297 aves, 76 de ellas presentaban signos clínicos de conjuntivitis por *Mycoplasma gallisepticum* y su H/L promedio era casi el doble de las aves sanas (Davis *et al.* 2004).

Aves de ambientes extremos, es decir que habitan lugares con condiciones físicas o geoquímicamente extremas y perjudiciales para la mayor parte de seres vivos en la Tierra, presentan adaptaciones en sus genotipos y fenotipos para sobrevivir a estas condiciones inusuales (Xie *et al.* 2017). La morfología, fisiología y etología de las especies guarda directa relación con las características de su hábitat, por tanto, especies que co-habitan en un mismo ambiente poseen características comunes, sin embargo la forma de responder a los agentes estresores de su ambiente puede ser radicalmente distinta, dado que en ambientes extremos las diferencias fisiológicas se amplifican (Schleucher *et al.* 1991). Las condiciones "extremas" en las que viven algunos organismos pueden representar un hábitat "normal" al que están adaptados, pero esto no implica que estos no experimenten estrés ante estímulos nuevos. Por ejemplo, en un estudio realizado en dos especies de aves que habitan el desierto de Australia (*Melopsittacus undulatus*, *Geopelia cuneata*), las que se encontraban sometidas a 35° C promedio en días de verano, experimentalmente fueron sometidas a temperaturas más altas para evaluar su respuesta a eventos de olas de calor, y se detectó diferencias significativas en los niveles de H/L en aves expuestas a 35° C versus aves expuestas a mayores temperaturas (Xie *et al.* 2017). Este tipo de estudio demuestra que la respuesta al estrés, en este caso, medida a través de la relación H/L, es variable entre especies dentro de un mismo ambiente (Wingfield 2013).

ESTRÉS Y CONDICIÓN

Una respuesta sostenida o crónica al estrés, o visto desde otro punto, una sobrecarga alostática permanente tiene repercusiones sobre la salud y condición de los animales (Cockrem *et al.* 2006; Blas 2015). La OIE (2015) acuña el término “salud animal” y lo define como “el bienestar físico y comportamental de los animales que incluye la prevención, tratamiento y control de enfermedades y condiciones que afectan al animal, su rebaño o manada”. Esta definición aplica particularmente a animales destinados a consumo humano, pero no es adecuada para especies silvestres (Blaha 2005). En especies silvestres a nivel individual, poblacional o específico, la expresión “condición de salud” ha sido ampliamente utilizada en la literatura (Davis 2005; Gálvez *et al.* 2009; Godínez *et al.* 2009; Wilcoxon *et al.* 2015), pero no definida con exactitud. Mann (1978) define el término “condition” (en adelante referido como condición) como la habilidad de un animal de lidiar con condiciones ambientales estresantes, sean éstas físicas, químicas o biológicas. Más tarde Schulet & Gustafsson (1993) proponen que la condición engloba factores nutricionales, sanitarios y fisiológicos que permiten caracterizar el bienestar del organismo. Algunas variables o factores pueden cambiar rápidamente (en minutos), mientras otras reflejan procesos constantes (Horak *et al.* 2002).

El peso y la reserva de algunos nutrientes están correlacionados con la sobrevivencia y el éxito reproductivo en aves, y es por esto que ambos factores han sido propuestos como indicadores de condición (Douglas *et al.* 1985). La inmunidad, establece un feedback constante con la condición de un organismo y compite por los recursos que pueden asignarse a otras actividades, es por esto que la investigación inmunológica puede ofrecer parámetros internos representativos a la hora de caracterizar la condición (Davis 2005). Los cambios que se desencadenan en las líneas celulares sanguíneas, principalmente la línea blanca, ante los cambios del ambiente, permiten en

muchos casos caracterizar las respuestas fisiológicas desencadenadas y en forma conjunta si dicha respuesta afecta o no la condición de los animales (Davis *et al.* 2005; Quillfeldt *et al.* 2008). Existen ciertos indicadores sanguíneos como el hematocrito, glicemia, metabolitos, proteínas plasmáticas, recuentos celulares, etc., que han sido asociadas a la salud y condición de los animales (Stevenson *et al.* 2006). La condición entonces puede ser evaluada a partir de la desviación de ciertos parámetros hematológicos y corporales respecto de sus valores de referencia normales de una especie (Otto *et al.* 2000).

Evaluar la condición a nivel poblacional tiene como objetivo establecer su sobrevivencia más allá de la salud animal individual de cada uno de sus integrantes (Beissinger & McCullough 2002). Poblaciones en que gran parte de los individuos poseen condiciones óptimas, muestran mejores tasas de reproducción, por tanto el éxito reproductivo está limitado en última instancia por una condición deficiente (Moller *et al.* 1998). Dada la estrecha y remarcable relación que existe entre estrés, condición y éxito reproductivo, resulta interesante analizar diferencias en la respuesta al estrés y en la condición de machos y hembras en período reproductivo, basadas en disimilitudes en cuanto a pérdida y recuperación energética desde la formación y postura de huevos (Reynolds & Waldron 1999). Esta temática se analiza en el Anexo 2.

PARAMETROS INDICADORES DE CONDICIÓN

La respuesta fisiológica a estímulos internos y externos no sólo se remite a cambios a nivel de H/L, aunque este parámetro es ampliamente usado por su representatividad y fácil obtención (Davis *et al.* 2008). Otros parámetros de fácil obtención medidos a nivel

sanguíneo, pueden entregar más información acerca de las causas de la condición, tales como: hematocrito o volumen globular (VG) y recuento leucocitario total (RLT) (Giambelluca *et al.* 2016). El valor de VG es usado como un parámetro indicador de condición, que puede complementarse con H/L (Morton 1994; Dowson & Bortolotti 1997). En el caso del RLT, este se considera un indicador de condición asociado a procesos infecciosos, que en aves al superar los 15 K/ μ l indica cuadros de estrés (Giambelluca *et al.* 2016).

Existen otros fenómenos que se desencadenan como la gluceogénesis, en que la glucosa es liberada desde el páncreas hacia la sangre con el fin de distribuir energía a todo el cuerpo (Melián 2014). Cuando el estímulo se mantiene y la respuesta se vuelve crónica generando estrés, existe un constante gasto energético que hace que las reservas energéticas se vean disminuidas al igual que el metabolismo de las proteínas extra-hepáticas y en consecuencia el sistema muscular, óseo, conjuntivo e inmune se verá afectado (Duncan *et al.* 2005). Por tanto, la condición de un individuo también se verá reflejada en aspectos físicos y fisiológicos asociados a las reservas energéticas (Peig & Green 2009; Melian *et al.* 2014).

1. Volumen globular (VG)

Dentro de la inmunología existen ciertos factores hematológicos reconocidamente representativos de condición que han sido ampliamente utilizados en distintas especies animales, porque además son de fácil obtención y rápido análisis (Ots *et al.* 2002). Uno de los parámetros sanguíneos prioritariamente utilizados es el hematocrito o volumen globular (Merino & Barbosa 1997; Bearhop *et al.* 1999; Sandoval *et al.* 2003; Fair *et al.* 2007; Johns 2008; Mitchell & Jones 2008; Galvez *et al.* 2009; Fallon *et al.* 2018). El VG es definido como la cantidad relativa de glóbulos rojos en el volumen total de sangre que refleja el grado y la eficiencia de la captación y transporte de oxígeno a los tejidos (Ruiz 1994). El valor de hematocrito varía dentro del rango de normalidad descrito

según factores como edad, sexo y estatus reproductivo (Fair *et al.* 2007). Galvez *et al.* (2009) describen que el hematocrito de cualquier ave en condición óptima varía entre un 40 a un 50%. Cuando los valores de VG determinados se encuentran bajo el rango de normalidad descrito para una especie (anemia), son indicativos de infecciones bacterianas, trastornos gastrointestinales, hemorragias, deficiencias nutricionales de minerales como el hierro o el cobre (Ots *et al.* 2002; Galvez *et al.* 2009). En aves silvestres por ejemplo, es usual encontrar que tanto factores intrínsecos como ambientales y antropogénicos, causantes de estrés, disminuyan el VG, es el caso de *Falco sparverius* que al estar sometido a campos electromagnéticos muestra valores de VG menores durante la época de apareamiento (Fair *et al.* 2007; Fernie & Bird 2001). Campbell (1994) concluye que valores de VG bajo el 35% en aves enjauladas pueden considerarse como anemias. También los valores de VG sobre el límite de rango tienen una interpretación, en este caso aumenta el número neto de eritrocitos circulantes por una disminución en el volumen total del plasma (policitemia relativa), o por el aumento en la producción de glóbulos rojos (policitemia absoluta) (Fair *et al.* 2007). En aves silvestres la policitemia suele ser relativa, asociada a cuadros de deshidratación (Fudge 1994). El hematocrito tiene una relación directa con la condición de las aves, ya que actúa sobre el metabolismo celular y además se correlaciona positivamente con la masa corporal y las reservas de grasa subcutánea, lo que refleja su directa relación con el estado físico y nutricional (Sánchez-Guzmán *et al.* 2004).

2. Recuento leucocitario total (RLT)

La primera línea celular de defensa contra patógenos son los leucocitos, y es por esto que el recuento leucocitario total (RLT), es también uno de los parámetros hematológicos usados para obtener información sobre la condición (Apanius 1998; Roitt *et al.* 2001; Davis *et al.* 2008). El RLT comprende los 5 tipos de leucocitos descritos en aves: monocitos, basófilos, eosinófilos, heterófilos y linfocitos, siendo estos

dos últimos tipos de especial interés para la evaluación de estrés (Sandoval *et al.* 2003; Galvez *et al.* 2009). Dependiendo del tipo de agente patógeno, distintos tipos de células blancas proliferan con el fin de eliminar la noxa, es por eso que cuando se observan procesos de leucocitosis (aumento en el RLT sobre el límite superior descrito para la especie), estos comúnmente se asocian a infecciones bacterianas, fúngicas o parasitarias activas (Latimer *et al.* 2005). Además observaciones clínicas en aves exóticas han demostrado que el RLT de aves excitadas comparadas con muestras tomadas en aves en reposo muestran “hemogramas de estrés”, con un RLT aumentado (Galvez *et al.* 2009).

Los casos de leucopenia (descenso en el valor de RLT bajo el límite inferior descrito para la especie), han sido reportados como consecuencia de procesos infecciosos virales en desarrollo, así como neoplásicos en algunos casos (Latimer *et al.* 2005). Los cambios metabólicos que aparecen como respuesta a una patología (infecciosa o neoplásica), incrementan el catabolismo proteico, produciendo una importante pérdida de masa corporal, que de no ser corregida a través de algún mecanismo homeostático, acabará por afectar la condición (Zamora *et al.* 2015).

3. *Proteínas plasmáticas totales (PPT)*

Las Proteínas Plasmáticas son un grupo de proteínas dentro de las que se cuentan principalmente: albúmina, globulinas, y fibrinógeno, que se producen y almacenan en el hígado y se liberan al torrente sanguíneo (Cunningham & Klein 2009). En conjunto estas proteínas realizan una función nutritiva, mantienen la presión osmótica y el equilibrio ácido-base (Latimer *et al.* 2005). La albúmina representa el 50 % de las PPT y su función individual predominante es transportar aminoácidos, ácidos grasos, enzimas, hormonas tiroideas y productos de desecho (Cunningham & Klein 2009). Las

globulinas son parte de la respuesta inmune, las seroglobulinas (globulinas específicas de la sangre) que se encuentran en mayor proporción son la inmunoglobulina G y M (Kindt *et al.* 2007). El fibrinogeno es una glicoproteína sintetizada en el hígado, que actúa como factor de coagulación (factor I), siendo el de mayor concentración en el plasma (Cunningham & Klein 2009).

Las PPT son evaluadas en su conjunto, cuando éstas se encuentran por debajo del rango establecido para una especie, se asocia a problemas nutricionales por baja ingesta de proteínas (Latimer *et al.* 2005). Por el contrario, cuando el valor de PPT es mayor o cercano al límite superior del rango descrito, puede asociarse a un estado de deshidratación, en el que la concentración de albúmina se ve aumentada y en consecuencia también aumenta el valor de PPT (Kindt *et al.* 2007).

4. *Peso o Masa Corporal (P)*

El peso es el parámetro morfométrico más intuitivamente usado como índice de condición nutricional (Marcus & Cortis 1996). En el caso de las aves, el peso ha sido usado como indicador de condición por su relación con las reservas grasas del organismo y en consecuencia con el gasto energético potencial de este (Scott *et al.* 2004). Además su obtención en aves silvestres es relativamente simple (Green 2001; Peig & Green 2010; Labocha & Hayes 2012). Su interpretación debe ir de la mano de intervalos de referencia lo más específicos posibles (Scott *et al.* 2004).

5. *Largo corporal (L)*

La longitud total de un ave es utilizada como un parámetro morfométrico capaz, en muchos casos, de determinar el sexo (dimorfismo sexual) (Moreno *et al.* 2001; Bertelloni *et al.* 2002; Setiawan *et al.* 2004). En algunos casos puede diferenciar

ejemplares adultos de juveniles y polluelos (Watanuki *et al.* 2003). Además, ha sido utilizado ampliamente para determinar, en conjunto con otros parámetros morfométricos, índices de condición corporal, y es por eso que representa un parámetro de utilidad en el presente estudio (Peig & Green 2009; Labocha & Hayes 2012)

6. Índice de Condición Corporal (ICC)

La condición corporal en aves puede ser definida como una medida del estado energético o nutricional de un animal relacionada con sus reservas grasas y proteicas y su tamaño corporal relativo (Gosler 1996; Almeida *et al.* 2015). En el caso de las aves, no es suficiente una apreciación visual sino que debe utilizarse un índice del estado nutricional de un animal (ICC) (Labocha & Hayes 2012). En el caso de las aves, suele determinarse usando una razón entre peso y largo total o por una regresión entre longitud total del cuerpo (Peig & Green 2009; Labocha & Hayes 2012).

Especies de aves silvestres, como los pingüinos, suelen sufrir drásticos cambios morfológicos en diferentes etapas del crecimiento, periodo reproductivo y ante cambios ambientales; asociados a costos energéticos que reducen las reservas de grasa (Davis *et al.* 1990). A lo largo del año todas las especies de pingüinos existentes varían sus requerimientos energéticos, llegando en algunos casos a perder hasta el 45% de su masa corporal (Fowler & Cubas 2001). Las reducciones de la condición corporal, reflejadas en un bajo ICC, pueden llegar a afectar la condición o el estatus sanitario de los individuos y en algunos casos de poblaciones completas (Kerry & Riddle 2009).

Las respuestas fisiológicas posibles ante un estímulo interno o externo, son determinadas en primera instancia por la dotación genética de cada individuo, a la vez

que la expresión de estos genes siempre se verá limitada por las condiciones ambientales (Warne *et al.* 2015). La condición sanitaria de un animal, es dinámica, y no puede explicarse sólo por la exposición a agentes patógenos (Kindt *et al.* 2007), sino que constituye la interacción de: organismo, agentes patógenos y ambiente, la que permite entender el estatus o condición sanitaria de los individuos y sus poblaciones (Moller *et al.* 1998).

Las amenazas a la sobrevivencia de una especie no siempre son evidentes en forma inmediata, es por eso que su constante monitoreo ayuda a entender y proyectar los mecanismos que llevan o llevarán a una determinada especie a un declinar o amenazar de alguna forma sus poblaciones (Cooke *et al.* 2004). En muchos casos no existen líneas base o estas son insuficientes para poder predecir donde y como surgirán problemas de conservación en una determinada especie (Wilkelski & Cooke 2006). Encontrar trabajos que combinen factores fisiológicos, comportamentales y poblacionales que permitan una interpretación integral de los problemas o amenazas en conservación de las especies no es habitual, sin embargo cada nuevo reporte en alguno de estos aspectos en poblaciones silvestres es una contribución al, hasta ahora escaso, “background” (Porter *et al.* 2000; Wilkelski & Cooke 2006).

ECOSISTEMA ANTÁRTICO

El ecosistema antártico depende del sistema climático del Océano Sur (Laws 1984), el cual es probablemente el mayor ecosistema marino en el mundo, con una data de al menos 20 millones de años (Knox 1980). El sistema de vientos del Océano Sur comprende tres elementos principales: un componente de vientos de dirección Este en las costas, un segundo componente de dirección Este que rodea el continente y se

extiende hacia el norte hasta 65° S, y un último componente con vientos de dirección Oeste que se extiende desde 65° S hasta 40° S (Knox 2007).

Las aguas del Océano Sur son frías, en la parte norte del continente, coincidente con la zona de la península e islas sub-Antárticas se describen temperaturas que fluctúan entre los 4 a 8 °C en verano y de 1 a 3°C en invierno (Knox 2007). A medida que se avanza hacia el sur por las aguas que rodean la porción continental de la Antártica, la temperatura desciende pudiendo fluctuar entre -1°C a -1,9°C (King & Turner 2007).

Se describen dos tipos de climas: Desértico polar, el cual se observa en el 98% del continente antártico, principalmente en la zona de la meseta polar (Knox 2007). Su temperatura media es de -49 °C y precipitaciones siempre sólidas que no superan los 5 cm anuales y disminuyen de la costa al interior, casi desapareciendo en el polo (King & Turner 2007). El segundo tipo de clima es el Polar oceánico presente en el 2% del continente, principalmente en la costa (Nylen *et al.* 2004). Sus temperaturas son bajas, oscilan entre 8 a -30 °C, y dan lugar a suaves veranos cortos con una alta humedad, mientras que los 10 meses restantes, estas regiones están cubiertas por nieve, a causa de abundantes precipitaciones, tanto líquidas como sólidas (Nylen *et al.* 2004; Knox 2007). En este clima se presentan los vientos catabáticos, que vienen del interior descendiendo del hielo a grandes velocidades, provocando un descenso en la temperatura del aire (King & Turner 2007).

La península Antártica y las islas sub- Antárticas presentan características climáticas particulares, las masas de aire que viajan en dirección Oeste son detenidas por altas montañas, como resultado las precipitaciones de esta parte de la Antártica son mayores y más frecuentes que en el resto del continente (Knox 2007). Las

temperaturas de esta zona son algunos grados más altas y los vientos de menor velocidad que en la parte Este del continente (King & Turner 2007; Knox 2007).

Tanto el continente, como el mismo océano están ampliamente cubiertos por hielo, cuya superficie varía drásticamente de $20 \times 10^6 \text{ km}^2$ en invierno a $4 \times 10^6 \text{ km}^2$ en la temporada de verano (Knox 2007). Es durante los meses de enero y febrero que tres tipos de suelo libre de hielo pueden distinguirse: (1) áreas permanentemente libres de hielo y precipitaciones, (2) áreas parcialmente cubiertas de hielo en los meses de invierno que se derriten al comenzar el verano, (3) áreas de roca expuesta, normalmente verticales, aisladas de nieve y hielo (King & Turner 2007). En el caso de la Península Antártica y las islas sub- Antárticas se describen áreas del segundo tipo, aunque también, en la parte continental se describen áreas de hielo permanente (Peter *et al.* 2005).

La cubierta de hielo continental y marino del polo sur desempeña un papel crucial en el sistema climático global; enfriando los océanos y atmosfera y aportando en gran medida con el efecto albedo (Kidston *et al.* 2011). Dicho efecto es el que producen las superficies terrestres, que reflejan la radiación solar enviándola de vuelta al espacio (Bracegirdle *et al.* 2015). Aproximadamente el 90% de la radiación se refleja de vuelta hacia el espacio, pero debido al aumento de los gases de efecto invernadero, la radiación queda atrapada y aumenta la temperatura del planeta (Hansen *et al.* 2011). A medida que aumenta la temperatura, se derrite más nieve, hielo y suelos de las regiones polares que han permanecido congelados largos periodos de tiempo (permafrost), el carbono atrapado en ellos es liberado hacia la atmósfera en forma de metano, que es un potente gas invernadero (Steig *et al.* 2009; Hansen *et al.* 2011). El metano liberado hacia la atmósfera genera más calentamiento global, lo que en

consecuencia, derrite más cantidad de suelos congelados, y el proceso continúa cíclicamente (Turner & Marshall 2011).

En conclusión, la dinámica del hielo antártico cumple una función ecológica global y local dentro del Océano Sur y en el ecosistema antártico (Knox 2007). Este ecosistema da origen a grupos taxonómicos de distribución circumpolar, proporcionándoles un hábitat que puede parecer hostil, pero al que están en gran medida adaptados (Kerry & Riddle 2009). La variabilidad, grosor y duración del hielo es posiblemente más importante que su extensión total, repercutiendo sobre todos los niveles de la cadena trófica (Flores *et al.* 2012).

En la trama trófica del continente antártico existe una especie clave que sustenta en términos energéticos a las demás especies, comúnmente llamado krill *Euphausia superba* (Knox 2007; Flores *et al.* 2012), especie que representa la principal presa para los depredadores mayores en épocas reproductivas (Meyer *et al.* 2009; Knox 2007; Flores *et al.* 2012). Dentro de los depredadores superiores propios de este tipo de ecosistema se cuentan: pinnípedos como la foca leopardo [*Hydrurga leptonyx* (Blainville, 1820)], foca de Weddell [*Leptonychotes weddellii* (Lesson, 1826)], foca cangrejera [*Lobodon carcinophagus* (Hombron & Jacquinot, 1842)], elefante marino del sur [*Mirounga leonina* (Linnaeus, 1758)]; ballenas, como la ballena azul [*Balaenoptera musculus* (Linnaeus, 1758)], ballena de aleta [*Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758)], ballena jorobada [*Megaptera novaeangeliae* (Borowski, 1781)]; aves como albatros, skúas y pingüinos (Peter *et al.* 2005; Knox 2007; Turner & Marshall 2011,) (Figura 1.)

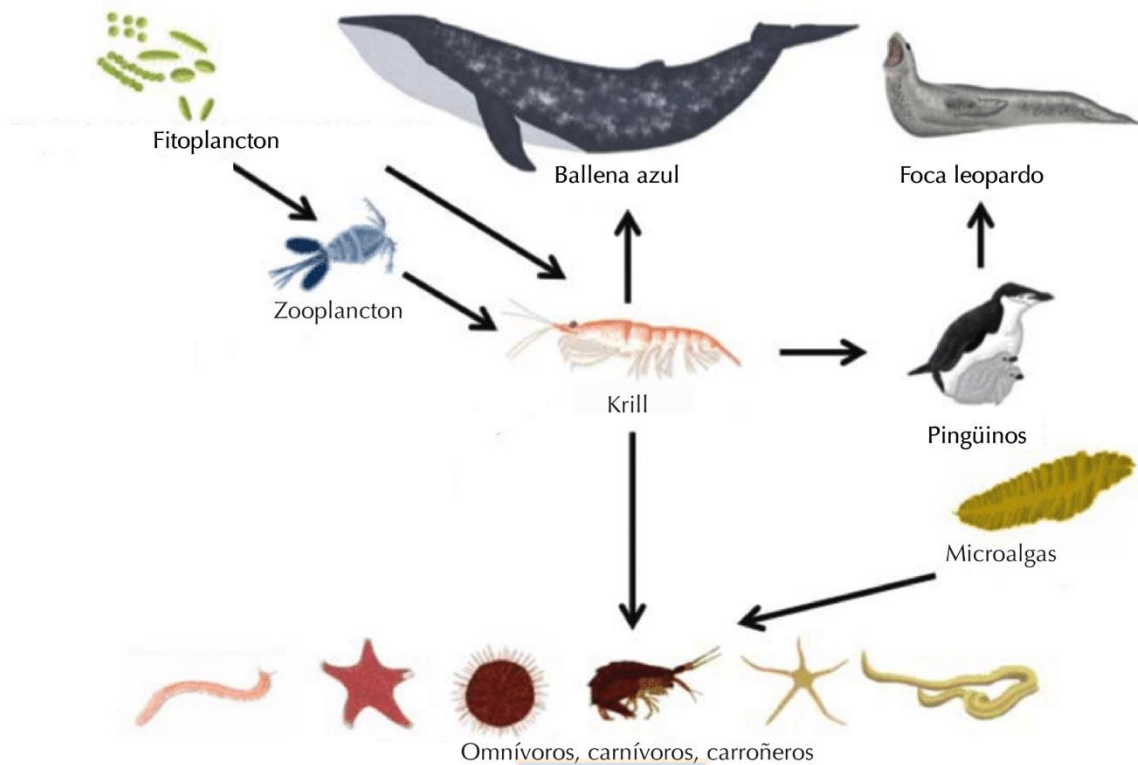


Figura 1. Diagrama simplificado de la cadena trófica del ecosistema antártico. Fuente: Imagen adaptada de Figuerola *et al.* 2013.

La forma de los témpanos de hielo y las alzas de presión que ocurre dentro del mismo, proporcionan un hábitat ideal para la retención de larvas de krill y el transporte de juveniles (Meyer *et al.* 2009). Las cubiertas de hielo grueso son más favorables en términos de refugio para juveniles que las de hielo fino (Massom & Stammerjohn 2010). Además ciertas algas de hielo encontradas en la parte inferior del hielo marino son una fuente importante de alimento para el krill larval (Flores *et al.* 2012).

En la península Antártica, la extensión de hielo disminuyó aproximadamente un 7% por década, entre 1979 y 2008 (Turner *et al.* 2009). Este rápido declive no sólo ha alterado

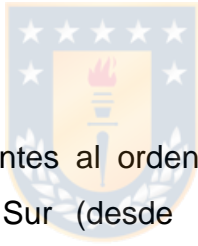
el entorno físico del hábitat sino que también la red trófica en múltiples niveles (Massom & Stammerjohn 2010). La pérdida de superficie de hielo reduce la biomasa de algas, lo que reduce a su vez la disponibilidad de alimento para el krill y la disponibilidad de krill para los depredadores (Forcada & Trathan 2009). El tipo de krill consumido por cada tipo de depredador difiere principalmente por la forma de captura y la profundidad de buceo (Reid *et al.* 1996). En el caso de los pingüinos antárticos, el krill puede representar entre el 75 al 100% de la dieta, dependiendo de la especie y época del año (Knox 2007).

La zona Antártica se ha visto expuesta a cambios importantes en los últimos cincuenta años, asociados a la intensificación de la actividad antropogénica, principalmente por aumento de la actividad pesquera y turismo (Bargagli 2008). Dentro de la actividad pesquera, la captura de krill (*E. superba*) es la de mayor tonelaje en todo el Océano Sur, con más de 200.000 toneladas capturadas en el año 2009 (Nicol *et al.* 2011). La captura industrial de una especie clave como es *E. superba*, es un punto de especial interés en el estudio de especies que depredan directamente sobre el mismo recurso (Plaganyi & Butterworth 2012). En depredadores como los pingüinos antárticos, con dietas que se constituyen principalmente de krill, la captura industrial puede generar una competencia artificial por el recurso (Knox 2007). Aunque la información respecto del impacto de esta industria es aún insuficiente, es un hecho que estas operan en las mismas áreas y profundidades a las que los pingüinos bucean para obtener krill, es por esto que la industria tiene el potencial de generar un gran impacto en las colonias de las diferentes especies de pingüinos de la Antártica (Werner 2015).

Por otro parte, el turismo también representa una potencial amenaza para la fauna Antártica, principalmente por tres razones: (1) introducción de especies exóticas como; microbios, plantas y animales, (2) la reiterada eliminación de contaminantes (orgánicos

e inorgánicos) a aguas, aire y suelo, y (3) molestias y daño directo a la fauna local (Mason & Legg 1999; Bauer 2001). Esta actividad se concentra en los meses del verano austral (Noviembre a Febrero), lo que vuelve especialmente susceptibles a las aves marinas. Es durante este período que pingüinos como: *P. papua*, *P. antarctica*, *P. adeliae*, *E. chrysolophus*, *A. patagonicus* y *E. cretatus* se encuentran en plena época reproductiva y la actividad turística cerca de los lugares de cría, puede ocasionar un incremento en el abandono de huevos facilitando la acción de depredadores (Mason & Legg 1999; Bauer 2001). Los viajes turísticos, tanto aéreos como marítimos, han aumentado en forma exponencial en los últimos 10 años, concentrándose fundamentalmente en el extremo norte de la península Antártica y en las islas Shetland del Sur (Jerez 2012). Según el reporte anual 2018-2019 de la IAATO (International Association of Antarctica Tour Operators) durante esta última temporada el número total de visitantes turísticos fue de 56,168, lo que representa un incremento 8.6% comparado con la temporada anterior 2017-2018.

PINGÜINOS PYGOSCELIDOS



Los pingüinos son aves pertenecientes al orden Sphenisciformes, orden distribuido exclusivamente en el Hemisferio Sur (desde la Antártica hasta Ecuador). Esta distribución se debe a que este orden se asocia a aguas templadas frías, razón por la cual su historia evolutiva más reciente ocurrió en paralelo con la formación de corrientes marinas australes al separarse la Antártica de los demás continentes del hemisferio sur (Sick 2001; Boersma 2008). Aparentemente su origen tuvo lugar en el corazón de Gondwana, justo cuando Sudamérica, África y la Antártica empezaban a separarse y previo a la formación del Océano Sur (Kooyman 2002). Su reconocida adaptación al mar parece ser una conversión desde un ancestro adaptado al vuelo, como los Procelariformes (Simpson 1976). La capacidad de buceo de los pingüinos les

ha permitido liberarse de competencia, al alcanzar profundidades no disponibles para otras aves marinas (Kooyman 2002). Por otra parte, la ausencia de vuelo ha delimitado su distribución, sumado a que su movilidad en tierra es menos eficiente que por mar (Knox 2007). Sus hábitats de reproducción están restringidos, con pocas excepciones, a islas templadas frías o áreas aisladas (Kooyman 2002).

Dentro de los pingüinos antárticos y sub- antárticos, el estudio filogenético realizado por Ksepka *et al.* (2006) sugiere que el antecesor común de estos, habría habitado la zona de las islas sub- Antárticas expandiéndose hacia el continente mismo. Sólo dos especies evolucionaron de manera de poder sobrevivir a las condiciones extremas de las altas latitudes Antárticas: El pingüino Emperador y el pingüino Adelia (Kooyman 2002).

Son siete las especies de pingüinos que se describen como Antárticas, es decir que se reproducen tanto en el continente como en islas sub- Antárticas (Laws 1984). Estas especies son: *A. fosteri* (pingüino Emperador), *A. patagonica* (pingüino Rey), *E. chrysolophus* (pingüino de Macaroni), *E. crestatus* (pingüino de Penacho Amarillo) (con una distribución limitada sólo a islas sub-antárticas), *P. adeliae* (pingüino Adelia), *P. antarcticus* (pingüino Antártico) y *P. papua* (pingüino Papúa) (Sanchez 2007; Kusch & Marín 2012).

Las aves marinas de la Antártica son un componente importantísimo para comprender el ecosistema que las rodea, principalmente por el impacto que generan al depredar sobre krill, zooplancton y peces (Knox 2007). Estas aves son, en conjunto, el grupo de depredadores marinos casi exclusivos de la Antártica (Laws 1984). El 90 % de la biomasa del grupo de las aves marinas está constituida por pingüinos, lo que los hace

altamente representativos, sumado al hecho de que estos son residentes permanentes altamente sensibles a los cambios ambientales (Knox 2007; Lynch *et al.* 2012).

Los pingüinos pertenecientes al género *Pygoscelis* o Pygoscelidos corresponden a tres especies: *P. papua*, *P. adeliae* y *P. antarcticus* (Black 2016). Las especies de este género poseen colas características llamadas “colas de pincel” debido a que sus plumas son pocas y muy rígidas formando una especie de pincel (McMillan 1993). La distribución de las tres especies de pingüinos Pygoscelidos se limita tanto a islas sub-Antárticas como a las costas del continente mismo; y áreas cubiertas de hielo como desprovistas (Knox 2007; Lynch *et al.* 2012). Una característica común del género es que sus nidos estén conformados por piedras, en zonas cercanas al mar con alta exposición al viento (Laws 1984). Si bien las poblaciones de las tres especies están sometidas a un macro clima común, sus requerimientos biológicos difieren, siendo *P. adeliae* la única de estas tres especies que es totalmente dependiente de hielo para llevar a cabo su ciclo de vida (Black 2016). Además es el único de los tres representantes del género que habita alrededor de todas las costas del continente (Kooyman 2002).

Las diferencias en los requerimientos biológicos de cada especie de pygoscelido son variadas (Knox 2007). En las migraciones realizadas por pingüinos *P. antarctica* y *P. adeliae*, las distancias recorridas son considerablemente mayores que en *P. papua*, que en realidad permanece en la colonia o en sitios aledaños (Clarcke *et al.* 2003; Biuw *et al.* 2009). En colonias simpátricas se ha podido observar que los primeros en arribar son ejemplares de *P. adeliae*, seguidos por *P. papua* y finalmente *P. antártica*, lo que plantea una relación de competencia por el sustrato (Black *et al.* 2016). Durante la incubación, las hembras de *P. antarctica* como de *P. papua* son las primeras en incubar los huevos, en cambio en *P. adeliae*, son los machos quienes se encargan primero de

esta labor (Watanuki 1993). Las estrategias de captura de cada especie difieren también, los *P. papua* depredan en aguas poco profundas y cercanas a las costas (Miller *et al.* 2009). Las otras dos especies lo hacen en aguas más profundas, a más de 100 m de profundidad en *P. antarctica* y de 50 a 100 m en *P. adeliae* (Ropert-Coudert *et al.* 2001; Takahashi *et al.* 2003).

Quizás una de las características diferenciales más interesantes es que la especie *P. papua* demuestra una mayor plasticidad en cuanto a su estrategia de captura y la composición de su dieta, principalmente en el consumo de krill, del que las otras dos especies son mucho más dependientes (Trathan & Hill 2016). Todas estas diferencias en las estrategias de vida de cada especie han permitido explicar parcialmente los cambios demográficos experimentados por cada una de ellas (Jefferson *et al.* 2007). Al menos en los últimos 20 años, la bibliografía reporta que en poblaciones de *P. adeliae* de la península Antártica, el número de parejas reproductivas ha descendido hasta en un 53 % (Peter *et al.* 2005; Forcada *et al.* 2006; Forcada & Trathan 2009; Lynch *et al.* 2012; Lynch & LaRue 2014; Juarez *et al.* 2015; Sierakowski *et al.* 2017). Los reportes en *P. antarctica* son los más escasos, sin embargo muestran una tendencia similar a la de las colonias de *P. adeliae* (Peter *et al.* 2005; Lynch *et al.* 2012; Sierakowski *et al.* 2017). Las colonias de *P. papua* por su parte, parecen estar manteniéndose o aumentando en número y cantidad de parejas reproductivas (Klemens *et al.* 2001; Peter *et al.* 2005; Forcada & Trathan 2009; Lynch *et al.* 2012). Aparentemente los requerimientos diferenciales, plasticidad y en definitiva la capacidad de adaptarse de *P. papua* le han permitido mantener, y en algunos casos mejorar, su éxito reproductivo, número de parejas y sobrevivencia, incluso logrando expandir sus rangos de distribución convencionales (Pistorius *et al.* 2010; Lynch *et al.* 2012).

Monitorear la condición fisiológica de los individuos de una población, ha permitido a quienes hacen estudios de conservación, establecer que el nivel de estrés que experimentan los individuos puede interpretarse como un índice de riesgo de amenaza de las poblaciones (Wingfield *et al.* 1997; Cockrem 2005; Walker *et al.* 2005). En base al éxito adaptativo mostrado por pingüinos de la especie *P. papua* de la península Antártica e islas sub- Antárticas, es esperable que los ejemplares de esta especie estén sometidos a menores niveles de estrés y muestren una mejor condición que ejemplares de las especies *P. adeliae* y *P. antarctica*.

HIPÓTESIS

El valor de la relación H/L de pingüinos de la especie *Pygoscelis papua* pertenecientes a la península Antártica e islas sub- Antárticas es menor al de las especies *P. adeliae* y *P. antarctica* de las mismas zonas, en consecuencia se espera además que factores asociados a condición: VG, RLT, ICC, PPT, P y L demuestren que la condición de la especie *P. papua* es superior a la de las otras dos especies.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el nivel de estrés y condición en pingüinos del género *Pygoscelis*, pertenecientes a la península Antártica e islas sub-Antárticas

Objetivos específicos

- Definir rangos de referencia de los parámetros: H/L, VG, RLT, ICC, PPT, L y P, para cada una de las especies estudiadas.
- Caracterizar la respuesta al estrés a través del parámetro H/L y su correlación con los parámetros asociados a condición.

- Caracterizar la condición de los individuos de cada grupo a través de los parámetros VG, RLT, ICC, PPT, L y P , comparándolos con rangos de referencia existentes
- Comparar respuesta al estrés y condición entre las tres especies a través de los parámetros previamente descritos (H/L, VG, RLT, ICC, P y L)



METODOLOGÍA

Área de estudio

Se utilizaron ejemplares de las tres especies de pingüinos: *Pygoscelis papua*, *Pygoscelis adeliae* y *Pygoscelis antarctica*, pertenecientes a colonias de cinco localidades en la península Antártica:

(1) Base Bernardo O'Higgins (BO), ubicada en Rada Covadonga, Cabo Legoupil (63° 19' 15" S; 57° 53' 55" O) península antártica. La base se ubica específicamente en el islote Isabel Riquelme (Figura 2) y fue fundada en 1948, es operada por el ejército de Chile. Durante el invierno, su población alcanza las 18 personas, principalmente militares y en los meses de diciembre a febrero se alcanza el máximo de habitantes, estos llegan a 44, contando militares y científicos (INACH 2016a). Está ubicada aproximadamente a 18 m s.n.m., el mar circundante posee glaciares durante todo el año, aunque no es hasta los meses de Mayo a Septiembre, con temperaturas ambientales que van de los -13,4 °C a -2,7 °C, que la superficie de sus aguas profundas se congela (INACH 2016a). Mientras, las temperaturas en los meses restantes son un poco mayores fluctuando en un rango que va desde los -11,1 °C a los 3,2 °C. Fuertes vientos descienden desde el glaciar de tipo alpino, estos superan fácilmente los 200 km/h de velocidad, arrastrando mucha nieve, que en ocasiones, impide la visibilidad por completo (INACH 2016a). Su clima se describe como semi-desértico polar, es decir una transición entre el clima polar oceánico de las costas, y el clima desértico polar del interior del continente (Bockheim 2015).

En cuanto a suelo, alrededor del 50% de la superficie se mantiene cubierta de nieve en los meses menos fríos, mientras el área por permafrost es aún mayor (Martin-Serrano *et al.* 2005). Los suelos del área permanecen congelados durante el invierno y se

descongelan en verano, en la mayoría de los casos el permafrost se encuentra dentro de los 0,3 metros de profundidad pero en suelos con roca sub-superficial puede encontrarse hasta a un metro de profundidad, se descongela en su totalidad (Godagnone & De la Fuente 2011).

Existen bloques o afloramientos rocosos pertenecientes a la cordillera general José Domingo Cañas, en la superficie de estos bloques pueden encontrarse algunos ejemplares de líquenes que representan en gran parte la escasa vegetación del lugar (Bockheim 2015). Los sitios de nidificación de pingüinos se encuentran en dos puntos: alrededor de la base misma (Figura 3) y en la isla Kopaitic ubicada a 600 metros al noroeste de la base (Figura 4). En el primer sitio la colonia de *P. papua* es pequeña. En el segundo sitio existen colonias simpátricas de las tres especies.





Figura 2. Base B. O'Higgins. Islote Isabel Riquelme. Fuente: Daniel González-Acuña.





Figura 3. Colonia de *Pygoscelis papua* en islote Isabel Riquelme (Base B. O'Higgins) sitio de nidificación. Fuente: Daniel González-Acuña.



Figura 4. Isla Kopaitic, sitio de nidificación. Fuente: Daniel González-Acuña.

(2) Base Presidente Gabriel González Videla (GGV), ubicado en Bahía Paraíso, península Antártica ($64^{\circ} 49' 26''$ S; $62^{\circ} 51' 26''$ O). Construida por la FACH, fue inaugurada el 12 de marzo de 1951. Esta base sólo es habitable en temporada estival, durante la cual hay 11 representantes de la FACH y 4 investigadores científicos, lo que suma una población máxima de 15 personas (INACH 2016b). Si bien la base se encuentra próxima a zonas especialmente protegidas por el tratado antártico; ZAEP 139 y ZAEP 153, la localidad en sí no cuenta con ninguna protección especial y es de hecho uno de los 5 puntos más visitados por turistas en todo el continente (Pardo &

Nieto 2014; INACH 2016b). Durante los años 1995 a 1999 esta zona recibió a 9856 turistas (Pardo & Nieto 2014). La base se ubica en el islote llamado Waterboat point (Figura 5). Promedios mensuales de temperatura del aire registrados en la Estación Palmer, muestran que en un período de 22 años la temperatura más baja registrada fue de $-7,8^{\circ}\text{C}$ en agosto y la más alta de $2,5^{\circ}\text{C}$ en enero con una media anual de $-2,3^{\circ}\text{C}$ (Baker, 1996). Son frecuentes las tormentas y precipitaciones con vientos persistentes, por lo general de leves a moderados (INACH 2016b). Durante los meses de verano el islote junto a la isla Kopaitic anidan alrededor de 14.000 pares de pingüinos de las tres especies de Pygoscelidos (INACH 2016b).



Figura 5. Base Gabriel González Videla, Bahía Paraíso, flechas rojas indican colonias dentro del islote. Fuente: foto modificada de INACH. http://www.inach.cl/inach/?page_id=12689.

(3) Cabo Shirreff (CS) Isla Livingston (62° 28' 12" S, 60° 46' 17" O) isla sub- Antártica; Punto situado en la costa norte de la isla Livingston, la segunda isla más grande de las islas Shetland del Sur (INACH 2016c). La superficie de la península es de aproximadamente 3,1 km², con 2,6 kilómetros en dirección norte-sur y 0,5 a 1,5 kilómetros en dirección este-oeste y una elevación promedio de 53 m s.n.m. (ZAEP 149). Se describen una serie de terrazas costeras, cerros redondeados, cerros con laderas empinadas, y playas de arena, grava y piedras (INACH 2016) (Figura 6). Datos de temporadas estivales recientes indican temperaturas diarias medias del aire que fluctúan entre 2°C a 2,5°C (Goebel *et al.* 2000; 2001). La península está cubierta de nieve gran parte del año y se observan icebergs en la zona costera, pero toda su superficie está desprovista de nieve en los meses de verano, sin embargo se describen precipitaciones durante la temporada con promedios anuales menores a los 60 mm (ZAEP 149).





Figura 6. Cabo Shirreff, Islas Shetland del Sur. Fuente: Daniel González-Acuña.

La actividad humana en Cabo Shirreff se ha limitado en gran medida a la ciencia (INACH 2016c). La zona es de especial interés, ya que alberga una gran diversidad de vida vegetal y animal; distintos tipos de invertebrados, una población sustancial de elefantes marinos del Sur (*Mirounga leonina*) y una pequeña colonia de lobos finos antárticos (*Arctocephalus gazella*) (Aguayo & Torres 1966). Más tarde el lugar fue designado Sitio de Especial Interés Científico (Torres & Aguayo 1993). La designación se fundamentó en la presencia de colonias de lobos finos antárticos y pingüinos, así como de pesquerías de krill dentro de una zona común, por eso su seguimiento y control es crítico para el ecosistema (INACH 2016c). En cuanto a la vegetación se han

registrado al menos un tipo de pasto, cinco especies de musgos, seis de líquenes y una de hongos (Knox 2007).

(4) Punta Narebsky (PN), península de Barton, Isla Rey Jorge (62° 14' 25" S, 58° 46' 5" O), isla sub- Antártica; Este punto se sitúa en la península de Barton ubicada en la costa sudeste de isla Rey Jorge (Figura 7) (ZAEP 171). La zona sólo es visitada en época estival con fines científicos y de vigilancia, aunque en los últimos años se han formulado denuncias sobre visitas, frecuentemente de personas provenientes de estaciones cercanas con fines distintos a los de investigación científica, en particular durante la temporada de reproducción, lo que ha aumentado la vulnerabilidad de la zona ante la interferencia humana (Peter *et al.* 2005). La Estación Rey Sejong, refugio ubicado en la costa sudeste perteneciente a la República de Corea, situada a 2 kilómetros al noroeste de la punta Narębski, ha pasado de ser visitada por menos de 20 personas anuales a fines de la década de los ochenta a más de 110 personas anuales (ZAEP 171).





Figura 7. Punta Narebsky, península Barton, Isla Rey Jorge. Fuente: Daniel González-Acuña.

El clima es húmedo, con una humedad relativa de 89% (media anual) y una temperatura media anual de $-1,8^{\circ}\text{C}$, con una máxima de $9,8^{\circ}\text{C}$ y mínima de $-23,1^{\circ}\text{C}$ (Knox 2007). Durante la temporada estival la nieve desaparece del suelo y las precipitaciones totales anuales ascienden a 597 mm (ZAEP 171). La media de la velocidad del viento es de 7,1 m/s (ZAEP 171).

Existe una cubierta de musgos y líquenes particularmente extensa, sumado a una especie de planta floral antártica (hasta ahora se han encontrado solamente dos especies de plantas florales en la Antártica, 51 especies de líquenes, 29 especies de musgos, seis especies de hepáticas y una especie de alga). Otra característica notable de la zona es que está habitada por más de 3.000 parejas de pingüinos Barbijo, el mayor número de la isla Rey Jorge (isla 25 de mayo), y más de 2.300 parejas de pingüinos de Papúa (Peter *et al.*, 2005). Hay además otras 16 especies de aves, entre ellas Skúas Pardas (*Stercorarius antarcticus lonnbergi*), Skúas Polares (*Stercorarius maccormicki*), Gaviotas Dominicanas (*Larus dominicanus*) y Petreles Gigantes (*Macronectes giganteus*), todos ellos posibles depredadores de polluelos de pingüino (ZAEP 171; Knox 2007).

(5) Península Ardley (ARD) isla Rey Jorge (62° 12' S; 58° 53' O), isla sub- Antártica: La isla o península Ardley, recibe esta doble denominación por la existencia de un istmo que queda cubierto por el mar durante los períodos de marea alta, aislando la península y convirtiéndola en una isla que evita el tránsito de personas hacia la zona protegida y posibilita una protección apropiada (Figura 8) (ZAEP 150). El punto se encuentra a aproximadamente 2 km al sudeste de la estación Bellingshausen (Federación Rusa) y de las estaciones Escudero y Frei pertenecientes a Chile (ZAEP 150). Si bien la zona de anidamiento posee protecciones especiales, el área colindante, donde se encuentran las estaciones, es altamente visitada por turistas, existe un tráfico aéreo importante dado que en este lugar se encuentra el aeropuerto chileno Teniente Marsh, esta área funciona como un centro logístico por su posición geográfica y las ventajas meteorológicas respecto de áreas más cercanas (Peter *et al.* 2005).

El área donde se encuentran las bases previamente descritas produce grandes cantidades de residuos como metales, madera, micro y macro plástico, vidrio, material tóxico y biodegradable. Esta zona de la Antártica se caracteriza por cambios climáticos

repentinos, en que la velocidad de los vientos y las temperaturas atmosféricas son mayores que en el resto del continente (Peter *et al.* 2005). En el periodo comprendido entre 1969 a 2005 se registró una temperatura promedio anual de -2,3 °C y una precipitación promedio anual de 687 mm (AARI 2006). Turner *et al.* (2005) reportan que las temperaturas en la época estival están aumentando de 0,1 a 0,5 °C por cada 10 años en esta área. La península se cubre de nieve durante gran parte del año salvo en la época estival en que el suelo queda desprovisto casi completamente (Braun & Hock 2002). Se describe la presencia del glaciar Collins justo en frente a la ZAEP 150, el cual ha disminuido en tamaño debido a su constante derretimiento (Braun & Mustafa 2012).

El área protegida posee algunas lomas que alcanzan como máximo 60 m s.n.m., en esta área existen colonias de *P. papua* y *P. adeliae* (Figura 9), pero se describen también colonias de skúas, gaviotas y petreles (Peter *et al.* 2005). Además de la presencia de mamíferos marinos como elefantes marinos, focas antárticas, focas de Weddell y focas leopardo. Dentro de la cubierta vegetal se pueden encontrar líquenes, musgos y una especie de angiosperma (Ochyra 1998; Peter *et al.* 2005).





Figura 8. Istmo de península Ardley. Fuente: Foto extraída de Peter *et al.* 2005.





Figura 9. Colonias de *Pygoscelis papua* en península Ardley. Fuente: Elaboración propia.

Toma de muestras.

Se obtuvieron muestras de 605 pingüinos adultos, los cuales fueron muestreados durante los meses de Enero y/o Febrero de los años 2011, 2012 y 2016. La Figura 10 indica las especies de pingüinos estudiadas en cada localidad muestreada, su ubicación y el año en que fue visitada. Con el fin de reducir al mínimo los disturbios provocados en las colonias, los pingüinos fueron capturados al salir del agua, al menos a 10 metros de los sitios de nidificación. Fueron capturados por medio de un chinguillo en forma oportunista, sin ningún otro criterio de elección más que la cercanía al

operador, en apremio a reducir situaciones de estrés. El tiempo máximo de manipulación fue de 6 minutos por ave, ya que cuando existe estrés la heterofilia y linfopenia se hace evidente a nivel sanguíneo una a dos horas post exposición, es por eso que con un tiempo de exposición breve y una toma de sangre inmediata se puede descartar que los resultados reflejen el estrés propio de la manipulación (Davis *et al.* 2008).

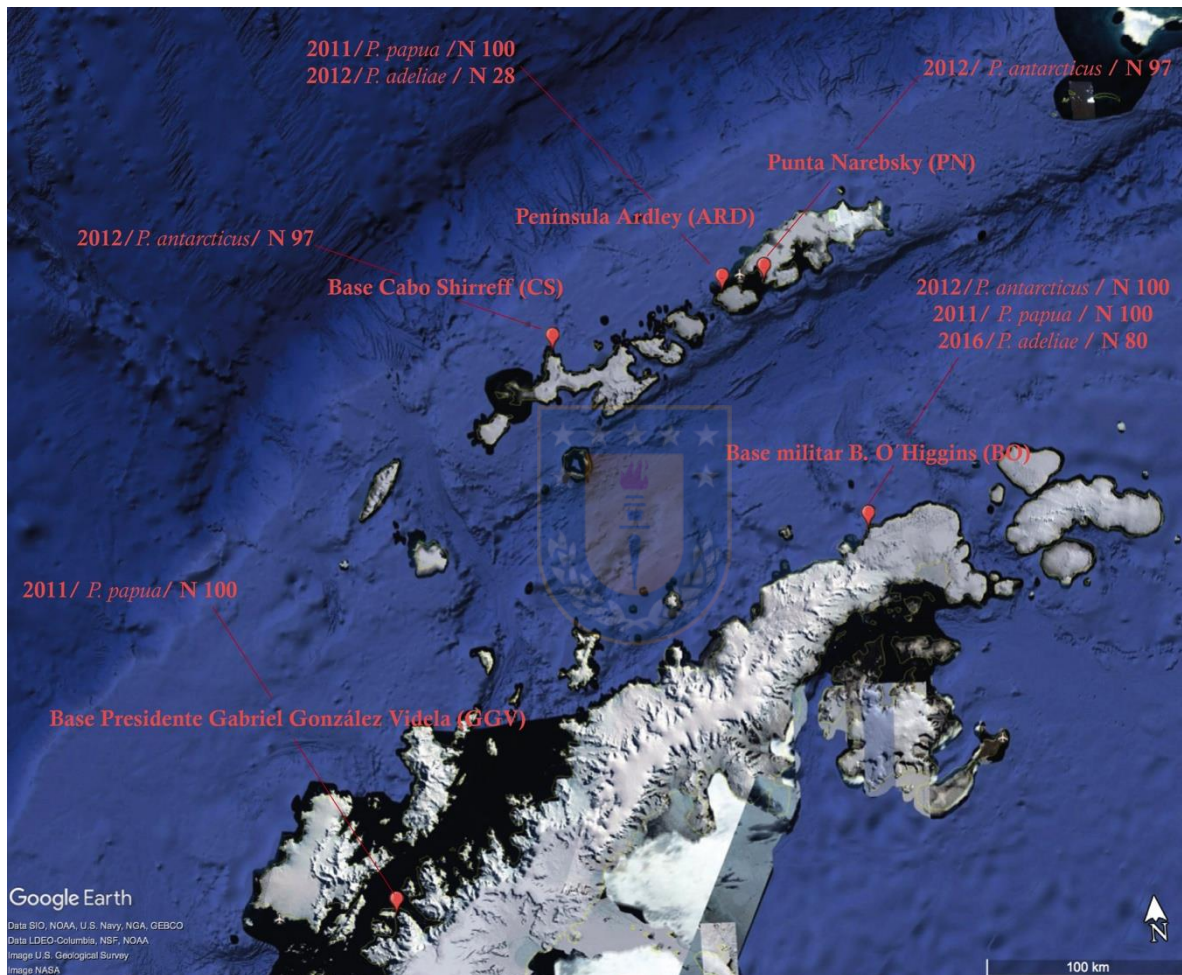


Figura 10. Mapa de la península Antártica, indicando lugar de muestreo, especie y tamaño muestral (N). Fuente: Extraído de Google Earth y posteriormente modificado.

Una vez capturados los ejemplares, fueron sujetados en forma manual y dispuestos en el regazo del investigador con el pecho acostado a lo largo de las piernas de este, aplicando una leve presión en la cabeza y patas (Wilson 1997). Durante todo el procedimiento se mantuvo con la cabeza tapada para reducir el estrés. Se extrajo a cada pingüino aproximadamente 3 ml de sangre mediante la venopunción de la vena braquial izquierda con aguja de 23G. Para una mejor asepsia del sitio de punción se usó alcohol al 70%. Una vez extraída la muestra, se realizó de inmediato un frotis sanguíneo siguiendo la metodología descrita por Galvez *et al.* (2009). Luego la sangre extraída se depositó por partes iguales en tubos con y sin anticoagulante. Posteriormente a la extracción de la sangre, mediante una huincha de medir (marca Standley) se obtuvieron medidas anatómicas de los pingüinos incluyendo el largo total. El peso se obtuvo en kilogramos con una pesola macroline (marca Präzisionswaagen). Previó a la liberación, y con el fin de evitar la recaptura, cada pingüino fue marcado con ácido pícrico en zona pectoral.

Las muestras fueron transportadas a los laboratorios del Instituto Antártico Chileno siguiendo la correspondiente cadena de frío. El plasma y suero fueron congelados a -80°C, para posteriormente ser analizados en el laboratorio de Patología Clínica, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción. Cada frotis fue fijado con metanol y teñido con colorante Giemsa (Merino1999).

Para evaluar la condición corporal de las aves se utilizó como medida una regresión lineal entre la longitud total del cuerpo y el peso dando un valor “esperado” del peso. Este valor “esperado” fue restado al valor real de peso obtenido durante el muestreo. Por lo tanto, los valores de este índice de condición corporal (ICC) son positivos cuando el peso del individuo está sobre lo esperado para su tamaño y valores

negativos indican que el peso del individuo está bajo el valor esperado para su longitud total (Labocha & Hayes 2012).

Análisis de laboratorio

La determinación de recuento diferencial de leucocitos, volumen globular y proteínas plasmáticas totales fue realizada en laboratorios de INACH en la Península Antártica, mientras que a partir de muestras de plasma y suero, se determinaron los parámetros restantes en el laboratorio de Patología Clínica, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción.

Volumen globular (VG): Se determinó por proceso de centrifugación en tubos de microhematocrito por 5 minutos a 12.800 rpm y se expresó en porcentaje. Este método tiene un margen de error de aproximadamente el 1% (Duncan *et al.* 2005).

Proteínas plasmáticas totales (PPT): Su concentración se determinó por medio de un Refractómetro de Golberg, siendo expresadas en gr/L (Schalm 1975). Sólo fue posible determinar este parámetro en *P. antarctica* y *P. adeliae*, ya que durante la campaña de muestreo de *P. papua* el refractómetro no estaba disponible en las bases visitadas.

Recuento leucocitario total (RLT): Se determinó en cámara de Neubauer utilizando como diluyente la solución descrita por Rees y Ecker modificado (Lucas & Jamroz 1961).

Relación Heterófilos/Linfocitos (H/L): Los frotis sanguíneos fueron secados al aire y fijados en metanol, para luego ser teñidos con tinción Giemsa. Se observó cada frotis al microscopio a 100X, los 100 primeros leucocitos observados se identificaron y cuantificaron según su tipo: linfocitos, heterófilos, basófilos, monocitos o eosinófilos. Se

determinó el H/L dividiendo el número total de heterófilos contabilizados de cada frotis por el número total de linfocitos del mismo frotis (Tejeda *et al.* 1997).

Análisis de datos

Los valores de H/L obtenidos fueron agrupados según especie y localidad conformándose los siguientes grupos: (1) *P. papua*/Base B. O'Higgins, (2) *P. papua*/Base G. González Videla, (3) *P. papua*/Península Ardley, (4) *P. antarctica*/Cabo Shirreff, (5) *P. antarctica*/ Punta Narebsky, (6) *P. antarctica*/ Base B. O'Higgins, (7) *P. adeliae*/Península Ardley, (8) *P. adeliae*/Base B. O'Higgins. Al analizar la distribución de los datos obtenidos para cada uno de estos grupos, se obtuvo que todos tenían una distribución no paramétrica.

Para establecer grupos que abarcaran a todos los ejemplares de una misma especie, con la certeza de que no se perdiera información al agrupar a pingüinos de una misma especie, pero de localidades diferente, se realizó un pre-análisis utilizando la prueba no paramétrica de Wilcoxon que determinó que existían diferencias significativas entre pingüinos de una misma especie pertenecientes a diferentes localidades. El pre-análisis permitió reagrupar a los ejemplares. Una vez re-agrupados los ejemplares, se obtuvieron 5 nuevos grupos: (1) Pa-ARD, compuesto sólo por ejemplares de la especie *P. adeliae* pertenecientes a la península Ardley (N= 25); (2) Pa-BO compuesto sólo por ejemplares de la especie *P. adeliae* pertenecientes a la base B.O'Higgins (N= 66); (3) Pb-SHBO, compuesto por ejemplares de la especie *P. antarctica* pertenecientes a Cabo Shirreff y base B. O'Higgins (N= 147); (4) Pb-PN, compuesto sólo por ejemplares de la especie *P. antarctica* pertenecientes a Punta Narebsky (N= 88); y finalmente el grupo (5) Pp, donde se agrupan a todos los ejemplares de *P. papua* (N= 279), de las localidades: base B. O'Higgins, península Ardley, base Gabriel González Videla.

Los cinco nuevos grupos fueron comparados entre sí nuevamente a través de la prueba no paramétrica de Wilcoxon para establecer diferencias significativas en los valores de H/L, es decir en su nivel de estrés.

Se realizó un análisis de componentes principales por cada grupo conformado, con los parámetros complementarios con el fin de reducir el número de variables y evaluar la relación de estas con H/L: volumen globular (VG), recuento leucocitario total (RLT), proteínas plasmáticas totales (PPT), índice de condición corporal (ICC), peso (P) y largo (L). Para evaluar condición asociada al estrés, se buscó la relación de H/L con otros parámetros utilizados para evaluar condición. Tales parámetros complementarios son representativos principalmente del estado nutricional e inmune de los ejemplares, por tanto aportan información sobre la condición desde estos frentes. Todas las variables fueron estandarizadas a la misma escala en cada uno de los grupos. En todos los grupos, el número de muestras se redujo debido a que existían ejemplares en los cuales no fue posible determinar a lo menos un parámetro complementario y por tanto no podían ser parte del ACP. Se utilizó el criterio de Káiser (1960) de selección de componentes, el cual establece que se deben escoger los componentes con autovalores iguales o mayores a 1. Para definir cuales parámetros dentro de cada componente eran los de mayor contribución se consideraron aquellos cuyos autovalores fueran iguales o superiores a 0,5 como describe Sokal & Rohlf (1986). Para establecer la relación entre el parámetro H/L y las componentes seleccionadas (según el criterio previamente descrito), se realizó un matriz de dispersión por el método de máxima verosimilitud (REML). Luego se sometió a cada componente y H/L a una prueba de correlación de Spearman (no paramétrica). La condición se determinó comparando los valores obtenidos en este estudio para los parámetros más representativos de las componentes seleccionadas, con valores descritos en la

literatura en las mismas especies. Los análisis previamente descritos fueron realizados en el programa estadístico JMP 14.

Para establecer intervalos o rangos de referencia de cada parámetro se utilizó el método de establecimiento de rangos en el programa Reference Values Advisor (Geffre *et al.* 2011).



RESULTADOS

Los valores de H/L para *P. papua* (grupo Pp) fueron significativamente menores que para los pingüinos de los grupos Pb-PN y Pa-BO ($p < 0,05$). En el caso de *P. adeliae* de Ardley (Pa-ARD), *P. antarctica* de Shirreff y base B. O'Higgins presentaron valores significativamente más bajos que *P. papua* ($p < 0,05$). La estadística descriptiva para este parámetro en cada grupo se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de H/L para cada grupo de pingüinos analizados. Para cada grupo se indica el tamaño de muestra (N), mediana, media, desviación estándar (DE), error estándar (EE), valores mínimos y máximos, intervalos de confianza (IC) y rango de referencia.

Grupo	N	Median a	Media	DE	EE	Mín.	Máx.	IC sup	IC inf	Rango de referencia
Pp	279	0,9	1	0,5	0,03	0,2	2,6	1	0,9	0,2- 2,6
Pb- SHBO	147	0,8	0,8	0,5	0,04	0,2	2,5	0,9	0,8	0,3- 2
Pb-PN	88	1,1	1,2	0,5	0,06	0,1	2,7	1,3	1	0,4- 2,7
Pa- ARD	25	0,5	0,6	0,4	0,09	0,1	1,9	0,8	0,4	0,1- 2,3
Pa- BO	66	1,3	1,2	0,5	0,06	0,2	2,1	1,3	1,1	0,4- 3,1

Pp grupo ejemplares *P. papua*, Pb-BOSH grupo ejemplares *P. antarctica* pertenecientes a Cabo Shirreff y Base B. O'Higgins, Pb-PN grupo ejemplares *P. antarctica* pertenecientes a Punta Narebsky, Pa-ARD grupo ejemplares *P. adeliae* pertenecientes a Península Ardley, Pa-BO grupo ejemplares *P. adeliae* pertenecientes a Base B. O'Higgins,

Los grupos Pb-PN y Pa-BO fueron los únicos que no mostraron diferencias significativas entre sí ($p > 0,05$). Estos dos grupos, además, poseen las dos medias y medianas de parámetro H/L más altas de todos los grupos conformados. Por otro lado, el grupo Pb-SHBO mostró la segunda media y mediana más baja de los cinco grupos,

siendo menor al grupo Pp ($p < 0,05$). La estadística descriptiva del parámetro H/L en grupos Pb-SHBO y Pb-PN se describe en la Figura 11.

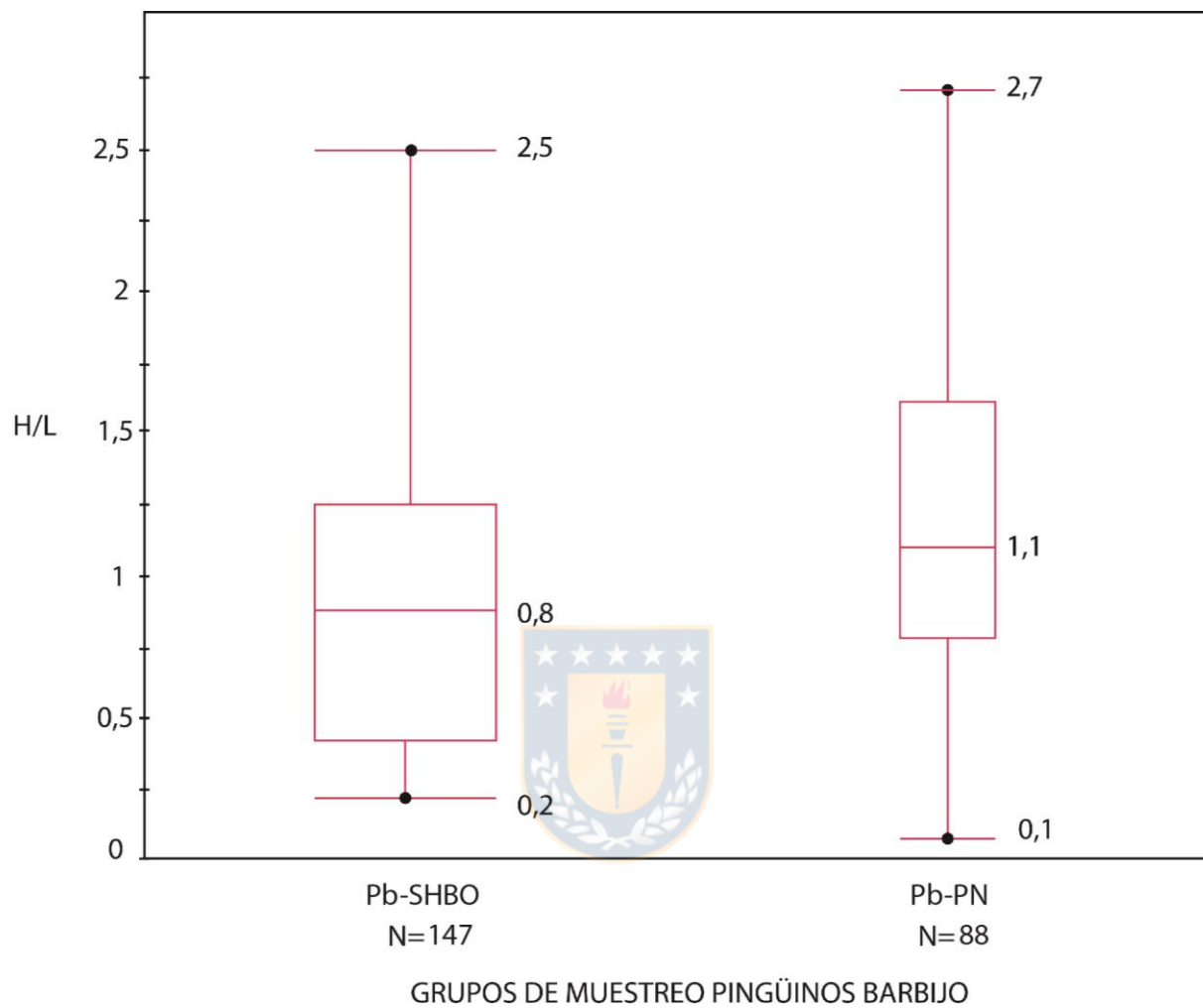


Figura 11. Mediana (M), máxima (Max) y mínima (Mín) del parámetro H/L obtenido de ejemplares de *Pygoscelis antarctica* pertenecientes a tres localidades de la Antártica. Se muestran dos grupos de muestreo Pb-BOSH y el grupo Pb-PN.

Los ejemplares de pingüino Adelia muestreados pertenecientes a dos localidades, mostraron el valor promedio más alto (Pa-BO) y más bajo (Pa-ARD) del parámetro H/L (Península Ardley y Base B. O'Higgins) (Figura 12).

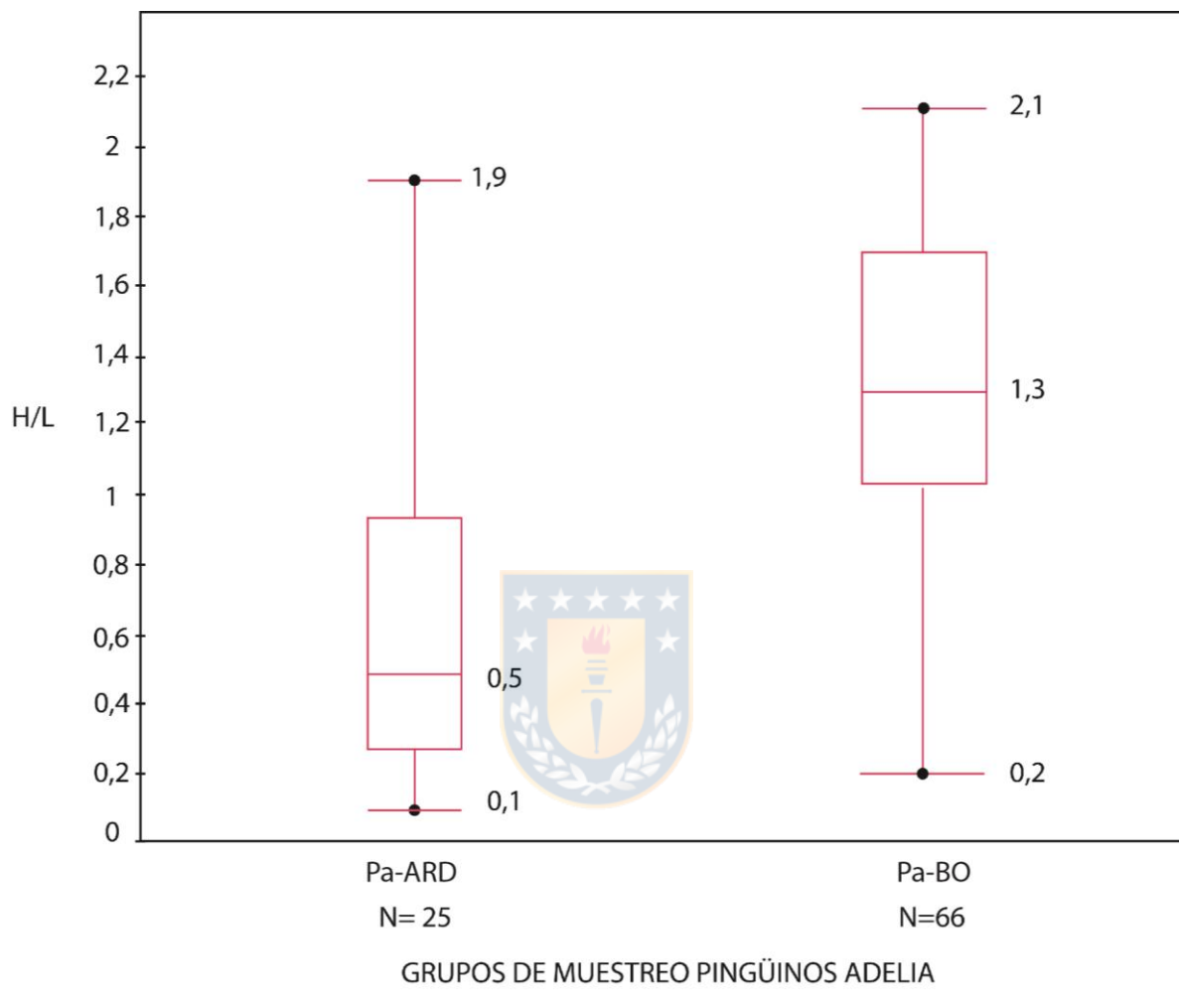


Figura 12. Mediana (M), máxima (Max) y mínima (Mín) del parámetro H/L obtenido de ejemplares de *Pygoscelis adeliae* pertenecientes a dos localidades de la Antártica. Se muestran dos grupos de muestreo Pa-ARD que reúne ejemplares de península Ardley, y el grupo Pa-BO que reúne ejemplares de base B. O'Higgins.

En cuanto al ACP del grupo Pp, este demostró que las componentes 1 (Prin. 1) y componente 2 (Prin. 2) explican el 57 % de la variabilidad de los datos. Dentro de cada componente se destacaron los parámetros con autovectores mayores a 0,5, los cuales se muestran en la Tabla 3. En la componente 1, los parámetros de mayor contribución son el índice de ICC y P. Mientras que en la componente 2, los parámetros de mayor contribución son VG y L (Tabla 4).

Tabla 3. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pp. En negrita se destacan las componentes y parámetros que contribuyen más a la variabilidad

Autovalores			
Número	Autovalor	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	1,51	30,3	30,3
2	1,34	26,8	57,2
3	0,97	19,4	76,6
4	0,68	13,7	90,4
5	0,47	9,5	100

Tabla 4. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pp. En negrita se destacan los autovectores que contribuyen más a la variabilidad

	Prin1	Prin2
RLT	0,06386	0,26454
VG	0,03268	0,69851
L	0,31178	0,61719
P	0,65203	-0,19307
ICC	0,68740	-0,15458

Al establecer la relación de estas nuevas variables con el parámetro H/L, se observó una correlación débil y no significativa entre H/L y la CP1 ($r=0,01$; $p>0,05$) y CP2 ($r=0,2$ $p>0,05$) (Figura 13).

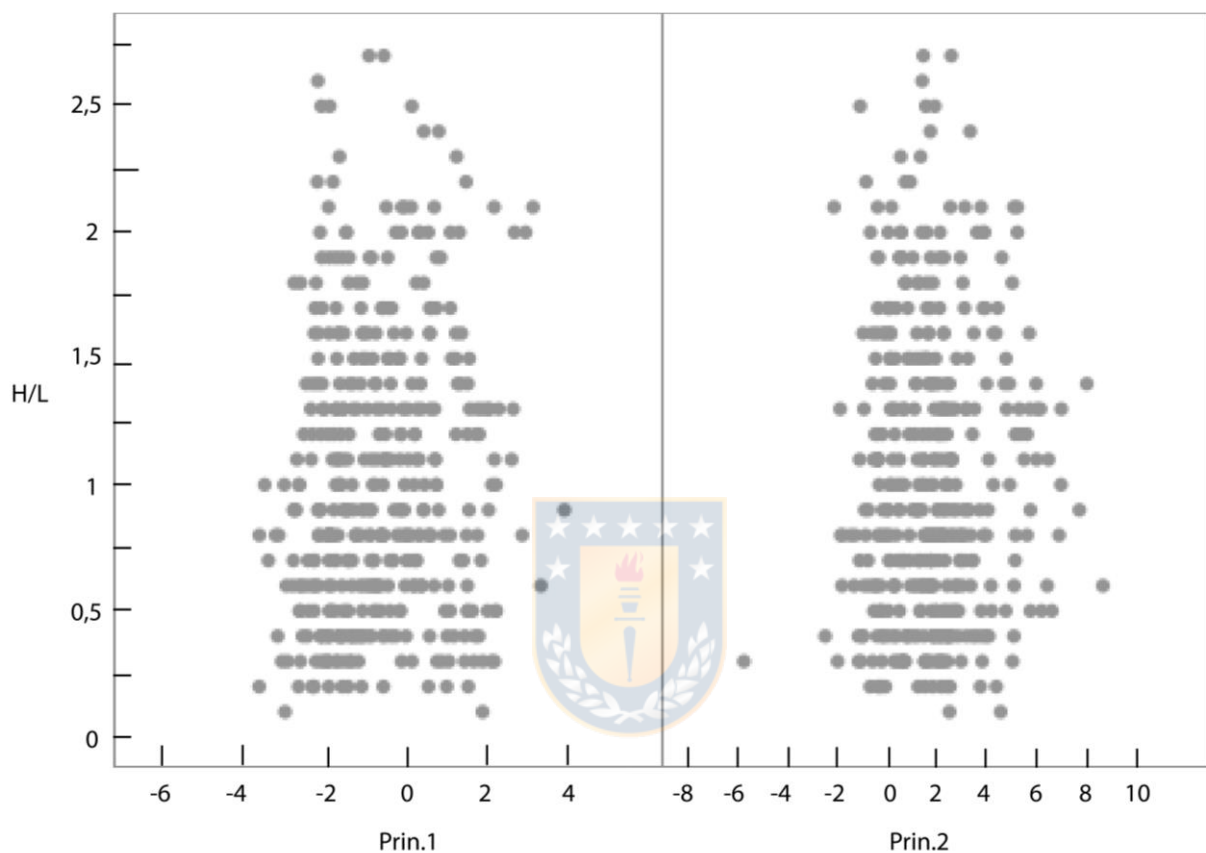


Figura 13. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (CP1) y componente principal 2 (CP2). Grupo Pp.

En pingüinos Barbijo el ACP del grupo Pb-SHBO mostró que la componente 1 y 2 explican el 59,4 % de la variabilidad de los datos en este grupo (con valores propios iguales o mayores a 1) (Tabla 5). La mayor contribución a la componente 1 la hacen los

parámetros P e ICC. En la componente 2 son VG y RLT los parámetros de mayor contribución (Tabla 6).

Tabla 5. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pb-SHBO. En negrita se destacan las componentes y parámetros que contribuyen más a la variabilidad

Autovalores			
Componente Principal	Autovalor	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	2,33	38,9	38,9
2	1,22	20,4	59,4
3	0,96	16	75,5
4	0,82	13,6	89,23
5	0,64	10,76	100
6	0,002	0,0	100

Tabla 6. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pb-SHBO. En negrita se destacan los autovectores que contribuyen más a la variabilidad

	CP1	CP2
VG	0,02458	-0,70793
RLT	-0,11536	0,63780
PPT	0,13584	0,26262
L	0,43392	0,15034
P	0,63720	0,00463
ICC	0,61100	-0,02109

La matriz de dispersión para establecer la relación entre H/L y la CP1 y CP2 en el grupo Pb-SHBO se muestra en la Figura 14. No existe una asociación ($\rho = 0,05$ $p > 0,08$) entre la CP1 y el parámetro H/L en este mismo grupo, pero si entre el parámetro H/L y la CP2 ($\rho = 0,23$ $p = 0,006$).

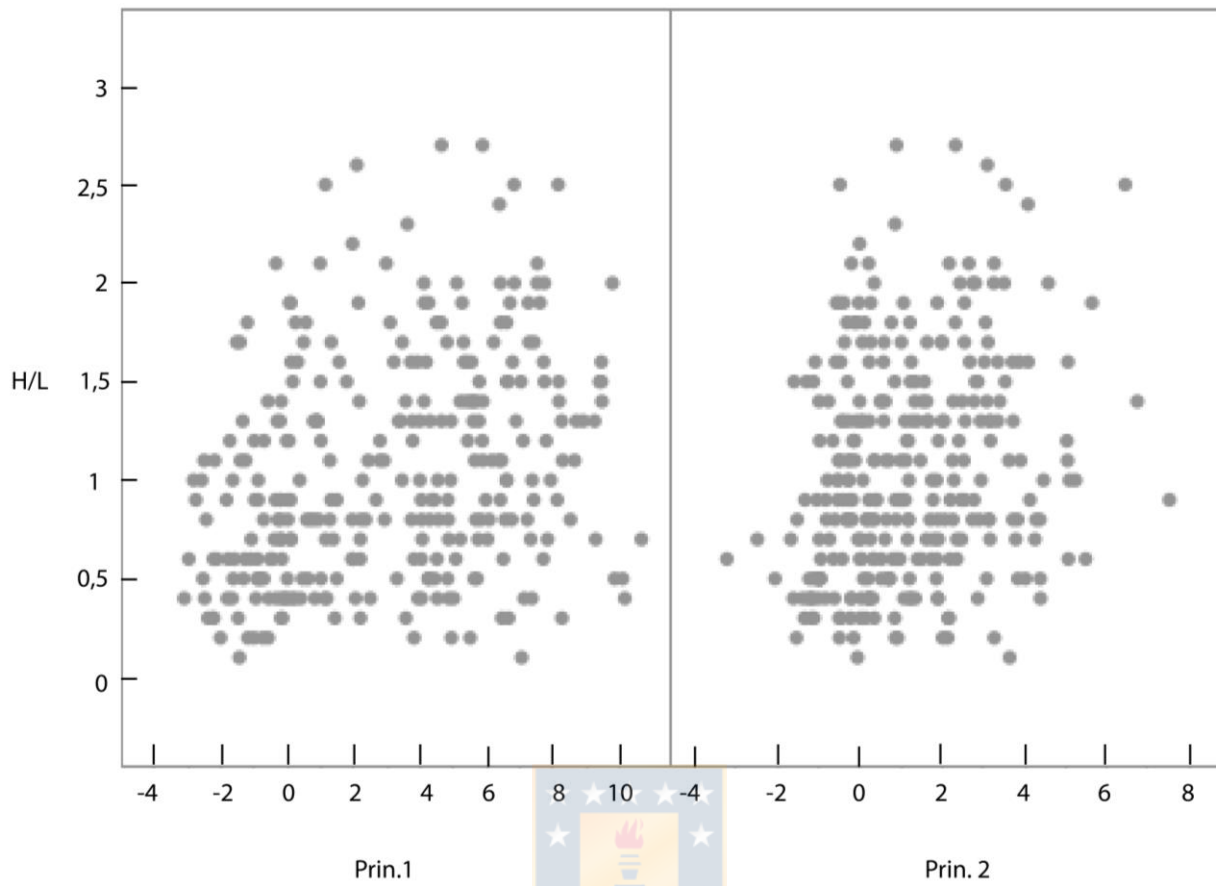


Figura 14. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (CP1) y componente principal 2 (CP2). Grupo Pb-SHBO.

Las primeras tres componentes del grupo de pingüinos Barbijo pertenecientes a Punta Narebsky Pb-PN explican el 80,3% de la variabilidad de los datos (Tabla 7). Además los parámetros de mayor contribución de la CP1 son P e ICC, de la CP2 son RLT y PPT, y de la CP3 es VG (único parámetro con autovalor mayor 0,5) (Tabla 8).

Tabla 7. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pb- PN. En negrita se destacan las componentes y parámetros que contribuyen más a la variabilidad.

Autovalores			
Número	Autovalor	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	2,52	42,1	42,1
2	1,29	21,6	63,7
3	1,02	1,02	80,3
4	0,67	11,2	92,1
5	0,47	7,9	100
6	0,00	0,0	100

Tabla 8. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pb-PN. En negrita se destacan los autovectores que contribuyen más a la variabilidad

	CP1	CP2	CP3
VG	-0,15166	0,10620	0,90305
RLT	0,21950	0,61466	-0,20533
PPT	0,12888	0,67526	0,22245
L	0,41578	-0,38889	0,30195
P	0,61366	-0,05958	0,04086
ICC	0,60230	-0,01259	-0,01259

La matriz de dispersión creada para este grupo muestra la relación del parámetro H/L con los 3 primeros componentes (Figura 15). Sólo la CP1 se correlacionó significativamente y positivamente con el parámetro H/L ($p < 0,05$; $\rho = 0,22$), es decir que H/L y la CP1, representada principalmente por peso e índice de condición corporal, varían de forma directamente proporcional. En tanto la CP2 y CP3 no se correlacionaron en forma significativa con el parámetro H/L ($p > 0,05$).

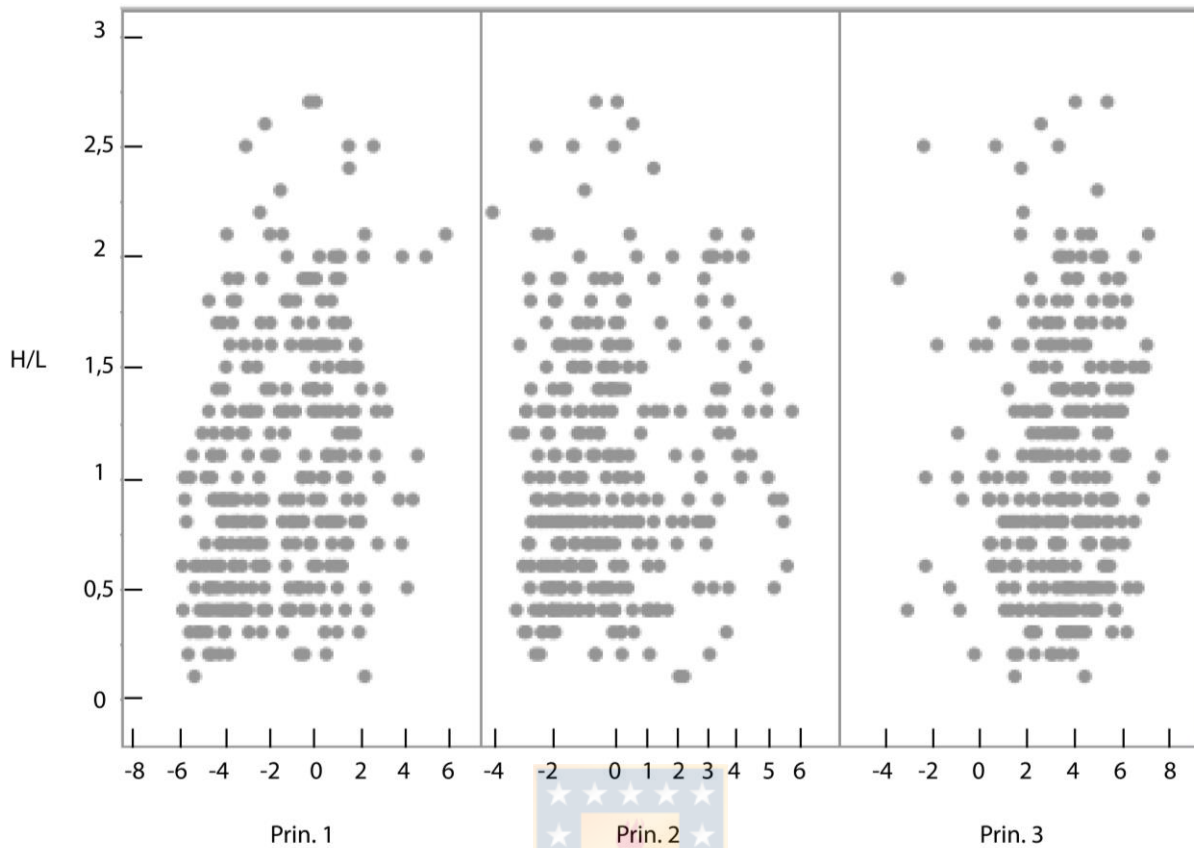


Figura 15. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (CP1), componente principal 2 (CP2) y componente principal 3 (CP3). Grupo Pb-PN.

El grupo Pa-ARD de pingüinos Adelia mostró que las componentes 1, 2 y 3 explican el 81,7% de la variabilidad de los datos (Tabla 9). L e ICC son los dos parámetros de mayor contribución dentro de la componente 1. En el caso de la CP2 los parámetros de mayor contribución son RLT y PPT, y en la CP3 es L el único parámetro con un autovalor mayor a 0,5 (Tabla 10).

Tabla 9. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pa-ARD. En negrita se destacan las componentes y parámetros que contribuyen más a la variabilidad

Autovalores			
Número	Autovalor	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	2,01	33,5	33,5
2	1,87	31,2	64,8
3	1,01	16,9	81,7
4	0,63	10,6	92,4
5	0,4554	7,5	100
6	0,00	0,0	100

Tabla 10. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pa-ARD. En negrita se destacan los autovectores que contribuyen más a la variabilidad.

	CP1	CP2	CP3
VG	0,24128	0,47717	-0,13327
RLT	0,12999	0,59578	0,11885
PPT	0,16558	0,51133	0,41577
L	0,00588	-0,26425	0,88061
P	0,66658	-0,23118	0,04763
ICC	0,67313	-0,18064	-0,13230

Al analizar la relación del parámetro H/L y las tres componentes seleccionadas, no se encontraron correlaciones significativas (Figura 16).

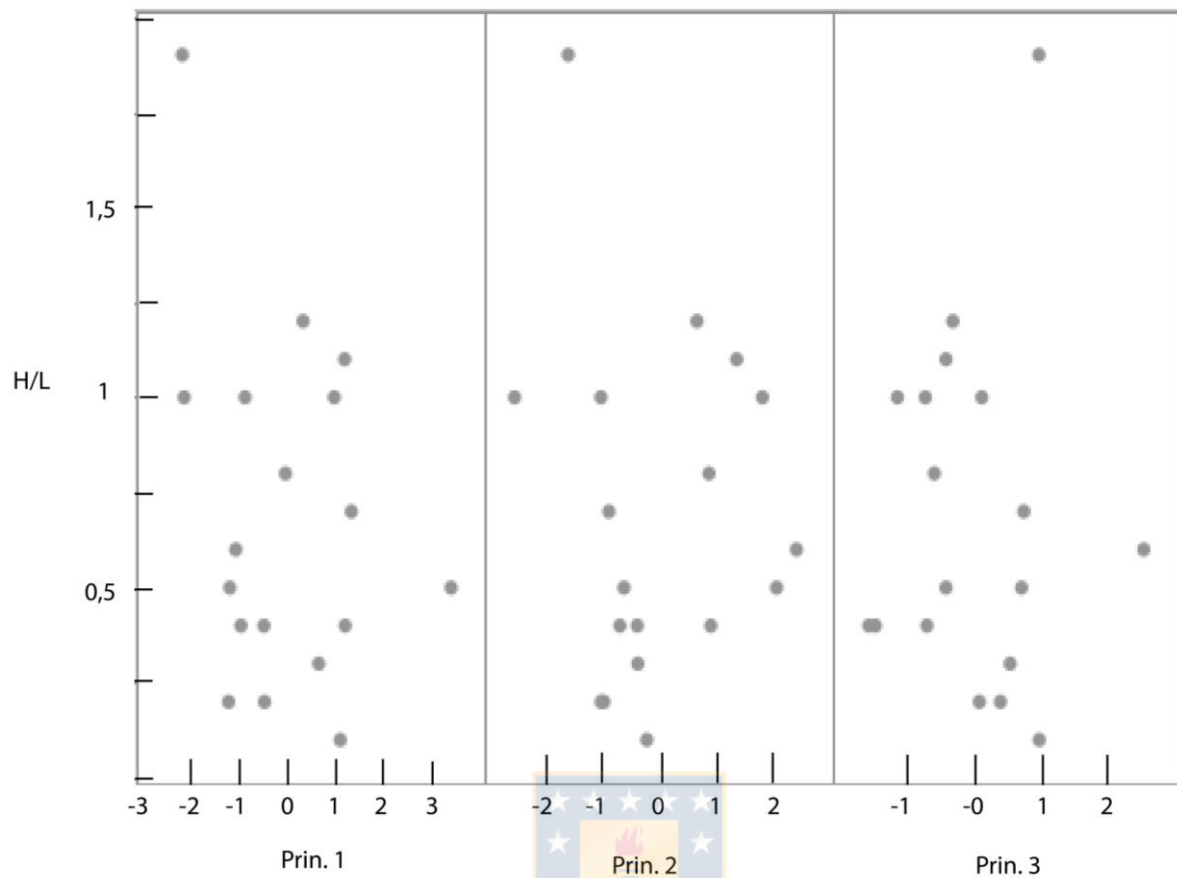


Figura 16. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (CP1), componente principal 2 (CP2) y componente principal 3 (CP3). Grupo Pa-ARD.

El ACP del grupo Pa-BO mostró que las primeras tres componentes son responsables del 83,2% de la variabilidad de los datos (Tabla 11). Los parámetros P e ICC son los que mayor contribución hacen a la CP1, mientras que RLT y VG son los de mayor contribución en la CP2, y VG y PPT en la CP3 (Tabla 12).

Tabla 11. Componentes principales y valores de vectores o parámetros dentro de cada componente de grupo Pa-BO. En negrita se destacan las componentes y parámetros seleccionados.

Autovalores			
Número	Autovalor	Porcentaje	Porcentaje acumulado
1	2,28	38,0	38,0
2	1,42	23,8	61,8
3	1,28	21,3	83,2
4	0,53	8,9	92,4
5	0,46	7,8	100
6	0,00	0,0	100

Tabla 12. Valores de autovectores de cada componente del ACP del grupo Pa-BO. En negrita se destacan los autovectores seleccionados

	CP1	CP2	CP3
VG	-0,04577	-0,51704	0,55937
RLT	0,00913	0,62385	0,38390
PPT	0,23251	0,31243	0,62025
L	0,39721	0,35917	-0,39047
P	0,63846	-0,19802	-0,03359
ICC	0,60835	-0,27867	0,03758

Al analizar la relación entre el parámetro H/L y las componentes principales 1, 2 y 3, no se encontraron correlaciones significativas ($p > 0,05$) (Figura 17).

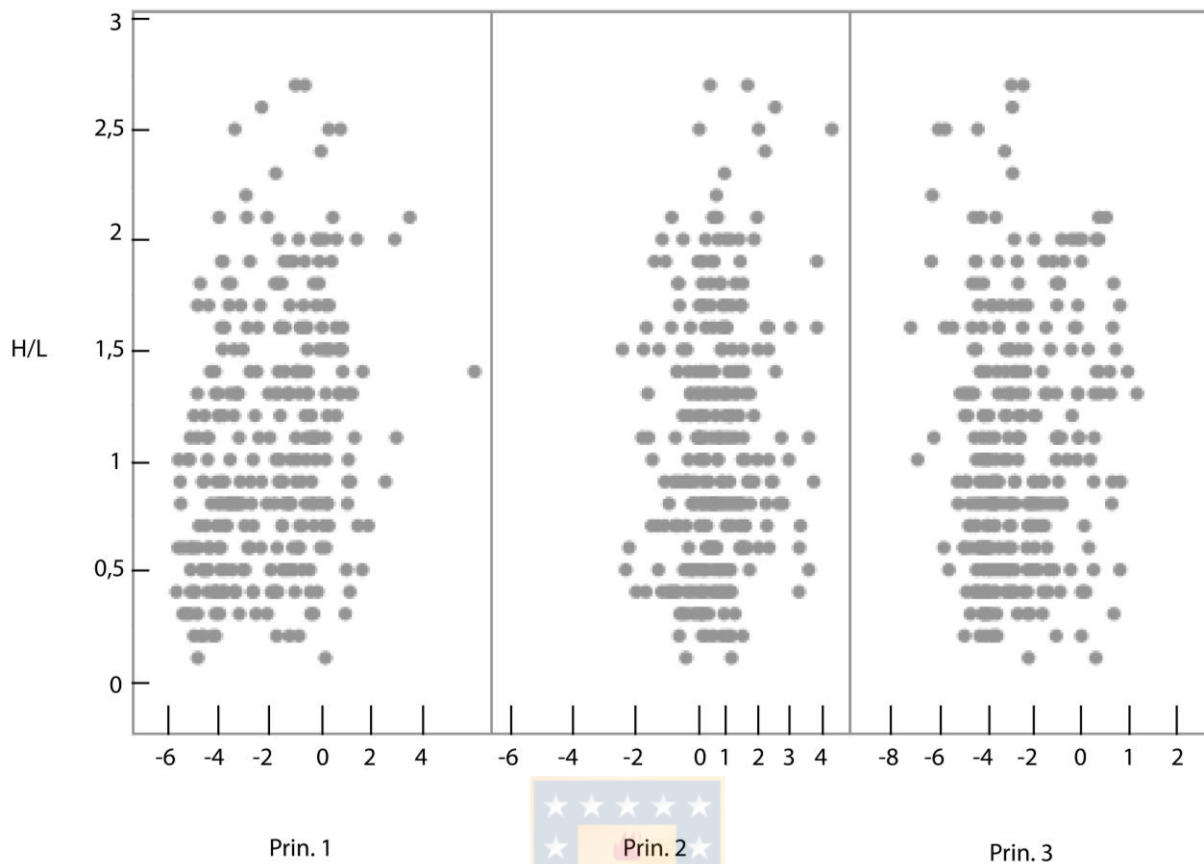


Figura 17. Matriz gráfica de dispersión de parámetro H/L y componente principal 1 (CP1), componente principal 2 (CP2) y componente principal 3 (CP3). Grupo Pa-BO.

Los parámetros complementarios de cada grupo se muestran en la Tabla 13. Se incluye además el intervalo de referencia generado para cada grupo.

Tabla 13. Estadística descriptiva e intervalos de referencia de parámetros complementarios de los cinco grupos muestreados

Grupo	Parámetro	N	Mediana	Media	DE	EE	Mín	Max	IC sup	IC inf	Rango
Pp	VG	125	50	48,3	9,3	0,8	20	67,3	49,8	46,5	20,4-62,9
	RLT	130	4825	5228	2735	240	1000	14200	5703	4754	1448-12500
	L	281	74,4	72,9	5,6	0,3	56,1	83,1	73,5	72,2	59,6-80,9
	P	281	5,1	5,2	1,1	0,06	3,3	8,8	5,3	5,0	3,7-7,7
	ICC	281	-0,21	-0,1	1,1	0,06	-1,7	2,5	0	-0,2	-1,6- 3,3
Pa-ARD	VG	26	49	44,4	12,9	2,5	12	62	49,6	39,1	16,6-72,4
	RLT	20	28400	34842	20589	4603	6600	72700	44478	25206	10464-80614
	PPT	28	7,2	7,1	0,8	0,1	5	8,8	7,4	6,8	5,2-8,5
	L	28	66,8	66,5	5,23	0,9	56,5	84,9	68,5	64,4	58,1-80,9
	P	28	4,4	4,5	0,6	0,1	3,8	6	4,8	4,3	3,3-5,9
	ICC	28	-0,2	-0,1	0,69	0,1	-1,34	1,48	0,12	-0,41	-1,4- -1,6
Pa-BO	VG	66	55	54,1	5,0	0,6	38	61	55,3	52,8	
	RLT	69	34750	30840	20698	2491	1880	84200	35813	25868	2027-79433
	PPT	68	9	8,8	0,8	0,1	7	11	9,02	8,6	7-10,8
	L	75	65	65,5	3,3	0,3	58,7	75	66,3	64,7	59,3-75
	P	75	4,5	4,7	0,8	0,09	3	8	4,9	4,5	3,5-6,9
	ICC	75	-0,1	0,0	0,7	0,09	-1,65	3	0,2	-0,1	-1,2 - 2
Pb-PN	VG	92	47	43,3	9,9	1,0	10	57	45,4	41,3	11,3-54,8
	RLT	94	13225	15360	8142	839	2950	40650	17027	13692	4556-35130
	PPT	92	8	7,9	0,7	0,08	6	10	8,0	7,7	6,1-9,8
	L	94	71,1	70,8	3,4	0,3	57,2	78	71,5	70,1	61,1-76,4
	P	94	5,4	5,3	0,6	0,06	3,2	6,5	5,4	4,2	3,7-6,5
	ICC	94	-1,8	-1,8	0,57	0,05	-3,7	-0,7	-1,7	-2,01	-0,9- -3,3
Pb-SHBO	VG	186	49	49,2	5,5	0,4	30	68	50,0	48,4	35-61
	RLT	188	12275	15393	9120	665	4700	46850	16705	14081	5425-40300
	PPT	185	5,2	5,2	0,4	0,43	4	7	5,3	5,1	4,3-6,2
	L	191	68,2	68,2	3,1	0,22	60,3	76,2	68,6	67,7	61,8-74,5
	P	189	3,9	3,9	0,4	0,03	3,0	5,4	4,0	3,8	3,2-4,9
	ICC	189	-3,2	-1,6	0,42	0,03	-4,14	-1,65	-3,1	-3,3	-4- 2,4

N tamaño de la muestra, DE desviación estándar, EE error estándar, Mín valor mínimo obtenido, Máx. valor máximo obtenido, IC sup intervalo de confianza superior de 95 %, IC inf intervalo de confianza inferior de 95%, VG volumen globular, RLT recuento leucocitario total, L largo, P peso, ICC índice de condición corporal

DISCUSIÓN

Los niveles de H/L de *P. papua* (grupo Pp) mostraron valores significativamente menores que los obtenidos para *P. adeliae* del grupo Pa-BO y *P. antarctica* del grupo Pb-PN, tal como se esperaba. Sin embargo, tanto el grupo de *P. adeliae* Pa-ARD como el de *P. antarctica* Pb-SHBO mostraron valores significativamente menores a los del grupo Pp. En consecuencia la hipótesis propuesta se rechaza, por no cumplirse a cabalidad. Por otra parte, los valores mostrados por la especie *P. papua* respecto de parámetros asociados a condición (VG, RLT, ICC, PPT, P y L) concluyeron que estas son similares a las obtenidas para las otras dos especies de pingüinos.

Gross & Siegel (1983), indican que aves con valores de H/L superiores a 1 deben considerarse como estresadas. En el caso del presente estudio tanto el grupo Pa-BO como el grupo Pb-SHBO obtuvieron un valor promedio H/L de 1,2, que indicaría estrés. Sin embargo la clase Aves alberga a más de 9000 especies, con biología disímil entre ellas, por lo que establecer un valor de referencia de estrés por especie, género o familia podría resultar más apropiado (Clarck *et al.* 2009). El estudio realizado por Minias (2019) confirma este último punto, el que a través de un análisis filogenético comparativo estableció que las diferencias en los valores promedio de la proporción H/L para aves paseriformes versus aves no paseriformes son un rasgo evolutivo divergente. En base a este hallazgo y otros registros bibliográficos es posible afirmar que establecer valores de referencia para el parámetro H/L, en una clase completa, no resulta idóneo cuando las especies son tan variables en cuanto a sus valores fisiológicos (Davis *et al.* 2008; Clarck *et al.* 2009; Vanstreels *et al.* 2014; D`Amico *et al.* 2016). En pingüinos, el estudio de los niveles de H/L aún es escaso, aunque no nuevo. En pingüinos magallánicos (*Spheniscus magellanicus*), Coraida *et al.* (2014) establece valores promedio de H/L en ejemplares que llegaron a las costas Brasileñas, un grupo de los cuales a pesar de ser sometidos a rehabilitación (alimentación asistida,

suplementos, desparasitación, etc.) no sobrevivió, mostraron un valor promedio de H/L igual a $3,87 \pm 0,57$ versus el grupo que si sobrevivió, cuyo valor promedio fue de $2,2 \pm 0,3$. Puede apreciarse que el valor del grupo de pingüinos Magallánicos sobrevivientes, se encuentra más cercano a los valores promedio de los grupos de pingüinos con valores de H/L mayores de este estudio, es decir al grupo Pb-PN y Pa-BO.

Hawkey *et al.* (1985) realizó un estudio en pingüinos Papúa en que comparó un grupo de aves sanas versus un grupo de estas aves con dermatitis plantar. Las aves sanas alcanzaron un valor promedio de H/L de 2,3 y un rango de 1,2 a 5,2 mientras que en el grupo de aves enfermas, el valor promedio de H/L fue de 4,4, y un rango de 2,2 a 7,3 siendo estos valores promedio, superiores a los obtenidos para el grupo Pp del presente estudio. Cabe señalar que los ejemplares estudiados por Hawkey *et al.* (1985) se encontraban en cautiverio en el Zoológico de Nueva York. D'Amico *et al.* (2016) determinaron valores promedio de H/L en ejemplares adultos sanos de pingüino Adelia y Papúa de colonias simpátricas en Punta Stanger (península Antártica), obteniendo un valor promedio de $1,1 \pm 0,2$ en pingüinos Adelia y de $1,6 \pm 0,2$ en Papúas, siendo significativamente diferentes los valores de ambas especies, lo que se explicaría principalmente porque la especie Papúa está expuesta a una mayor diversidad de parásitos, lo que aumentaría sus niveles de heterófilos. El valor promedio de H/L obtenido en este estudio para el grupo Pp es similar al del estudio citado previamente, aunque su desviación estándar es mayor, efecto que podría darse porque los ejemplares del presente estudio provienen de tres localidades diferentes. Además el estudio de D'Amico *et al.* (2016) sólo muestreó a 20 ejemplares de una localidad. En el caso de pingüinos Adelia, los valores promedio se asemejan a los obtenidos para el grupo Pa-BO, comparativamente más altos que en el grupo de la misma especie Pa-ARD. Al respecto, cabe señalar que esta especie de pingüino mostró el valor promedio de H/L más alto (Pa-BO) y más bajo (Pa-ARD). Es particularmente interesante notar

que pingüinos de una misma especie, pertenecientes a localidades diferentes, muestren valores significativamente diferentes de H/L. Esta variación podría estar explicada por las características propias de cada localidad, donde se produciría más estrés en la base Bernardo O'Higgins, en comparación a península Ardley, para esta especie. La especie *P. adeliae* se ha descrito como dependiente de hielo, lo que la vuelve altamente sensible al aumento de temperatura del océano y aire (Ainley *et al.* 2010; Black 2016). Los pingüinos de esta especie usan el hielo de la superficie oceánica, tanto para descansar como para capturar sus presas (Ainley *et al.* 2010). Al comparar las características ambientales de ARD y BO, puede destacarse que en la última localidad, la presencia de hielo es mucho más abundante y permanente, incluso en la época estival (Braun & Hooke 2002; INACH 2016a). Igualmente las temperaturas ambientales promedio anuales de ARD son mayores a las de BO (INACH 2016a). Estas diferencias ambientales, sustentarían indirectamente la idea de que los ejemplares pertenecientes a BO muestren menores valores de H/L (estrés) que los ejemplares de ARD, sin embargo, contrario a lo esperado, ejemplares de BO mostraron valores más altos (1,2) que los ejemplares ubicados en ARD (0,6). De acuerdo con los reportes de la Dirección General de Aeronáutica Civil, Dirección Meteorológica de Chile, Servicios Climáticos, la Base BO durante el año anterior al muestreo de este grupo de pingüinos Adelia, es decir año 2015, se reportaron 4 eventos de olas de calor, que en total abarcaron 14 días, alcanzando una temperatura promedio de 2,5 °C, versus una temperatura promedio anual de -4,1 °C. Sumado a esto se reportó una cantidad de nieve fresca inusualmente alta con un total anual de 412, 9 cm. Mientras que en Ardley los datos obtenidos a partir de esta misma fuente para el año anterior al del muestreo, es decir 2011, fueron de 3 eventos de ola de calor, que en total abarcaron 11 días, alcanzando una temperatura máxima de 2,2°C, versus una temperatura promedio anual de -3,2°C. Las condiciones de temperatura con mayor variación, sumado a una cantidad de ne alta en el BO durante el año 2015 podrían

verse reflejadas en un aumento de H/L producto del posible estado alostático por el que los ejemplares de *P. adeliae* de BO atravesaron como respuesta a estos cambios. Pero cuando se evalúan junto al H/L, parámetros complementarios que indican condición, la tendencia es la inversa, es decir, los valores promedio de al menos ICC, VG y PPT de los ejemplares de pingüinos Adelia de BO, son mayores a los de ARD. El modelo alostático permite entregar una explicación a este escenario, una alteración de H/L (aumento) representa una respuesta al estrés o en términos del modelo; un estado alostático. El estado alostático es aquel en que el organismo intenta mantener la homeostasis a pesar del estímulo. Sin embargo cuando estado alostático es permanente, ocurre una sobrecarga alostática que tiene repercusiones sobre la salud y condición de los animales, por el coste energético que implica (Cockrem *et al.* 2006; Blas 2015). En base al parámetro H/L, los pingüinos Adelia pertenecientes a BO estarían experimentando estados alostáticos, pero no sobrecarga alostática, por lo que su condición no se ve mermada,

En pingüinos Barbijo no existen estudios comparativos de niveles de H/L entre grupos control y grupos sometidos a algún estímulo específico (Goessling *et al.* 2015). Estudios como el de Vanstreels *et al.* (2014) determinan valores promedio de H/L en ejemplares de pingüinos Barbijo sanos al examen clínico, este estudio determinó un valor promedio de H/L de ejemplares pertenecientes a Demay point (Islas Shetland del sur) igual a $1,0 \pm 0,5$ y en ejemplares pertenecientes a península Keller un valor promedio de H/L fue de $0,6 \pm 0,1$ lo que se debería a diferencias ambientales, aunque el estudio no detalla cuales podrían ser estas. Mientras que Jara- Carrasco *et al.* (2015) determinó que el rango de tres colonias de pingüinos de esta especie sometidas a distintos niveles de contaminantes orgánicos persistentes variaban en el rango 0,9 y 1,87. La variación de los valores de H/L entre localidades para esta misma especie es similar a la obtenida en este estudio.

En Pygoscelidos, los valores de H/L parecen variar bastante dentro de una misma especie (Anexo 1) al comparar localidades y condiciones fisiológicas diferentes, es así como de los cinco grupos estudiados, sólo dos no difirieron significativamente en sus valores del parámetro H/L, aun cuando los ejemplares de cada grupo pertenecían a especies y localidades diferentes (Pa-BO y Pb-PN). Este parámetro en definitiva, entrega información sobre una respuesta al estrés (dicho de otra forma, el estado alóstatico), pero no es suficiente para establecer si dicho estrés lleva a una situación de sobrecarga alostática, es decir si merma o no la condición del organismo (McEwen & Wingfield 2003; Blas 2015; Schreck & Tort 2016). Sin embargo, el estudio de Fefferman & Romero (2013), logró establecer que los individuos de una población con mayores índices de condición corporal en la temporada reproductiva, son también los que presentan mayores promedio de H/L. Para entregar un panorama sobre la condición general de un individuo se deben integrar factores que diluciden la cronicidad de la respuesta al estrés y su efecto en el correcto funcionamiento orgánico, es decir factores que den cuenta del estado nutricional, inmune y reproductivo (Fair *et al.* 2007; Clarck *et al.* 2009).

El análisis de componentes principales realizado al grupo Pp mostró que dentro de las componentes seleccionadas, los parámetros de mayor contribución fueron: P e ICC en la componente 1; VG y L para la componente 2. Tanto el peso como el índice de condición corporal dan idea del estatus nutricional, e indirectamente sobre las reservas energéticas de los ejemplares, es por eso que son importantes a la hora de evaluar la condición en su totalidad (Peig & Green 2009). Por otra parte, los parámetros ligados a la métrica de glóbulos rojos como el VG en el caso de este estudio proveen información sobre la función aeróbica del organismo, esencial para el correcto funcionamiento de todos los sistemas (Johnstone *et al.* 2012). Además, se describe que este parámetro responde sólo al estrés de tipo crónico (Romero *et al.* 2004).

Bevan *et al.* (2002) obtuvo un promedio de peso de $6,4 \pm 0,2$ kg en pingüinos papúa adultos de Isla Pájaro (South Georgia) en los veranos de 1992 y 1993. Mientras que Tanton *et al.* (2004) obtuvo un valor promedio de peso de 6,8 kg y un rango de 6,6 a 7 kg en pingüinos Papúa de la misma colonia durante los meses de abril a agosto de 2001. El rango de peso descrito para la especie es más amplio, y va de 4,5 kg a 8,5 kg (Dunning 2007). En el caso de este estudio los valores promedio y mediana del parámetro P en el grupo de pingüinos Papúa se encuentra dentro del rango descrito para la especie, aunque más cercano al límite inferior. Al observar los valores de ICC del mismo grupo se observa que sus condiciones corporales son un poco menores a lo esperado para los valores de L obtenidos, con un promedio de $-0,1 \pm 1,1$ y una mediana de -0,2. Ninguna de las dos componentes seleccionadas se correlacionó significativamente con H/L. Si bien H/L no mostró relación con la componente 1 representada principalmente por P e ICC, si puede apreciarse que H/L también es cercano al límite inferior de rangos descritos en otros estudios para el pingüino Papúa (Hawkey *et al.* 1985; D'Amico *et al.* 2016).

Uno de los factores intrínsecos con mayor influencia sobre la variación del peso y la condición de un ave es el período de muda y el de crianza, el primero porque implica un período de inanición y el segundo principalmente por el costo energético que conlleva alimentar a los polluelos (Dunning 2007). En específico en pingüinos Papúa, el periodo de crianza implica costos energéticos mayores para los padres a medida que los polluelos crecen (Bevan *et al.* 2002). En pingüinos Papúa de la península Antártica se determinaron valores promedio de peso de padres en período de crianza de 5,8 kg para machos y 5,0 kg en hembras (Renner *et al.* 1998). Es importante aclarar que las colonias de pingüinos muestreados en el presente estudio (de las tres especies) estaban en período de crianza, lo que podría explicar por qué los valores promedios de Pp sean cercanos al límite inferior del rango descrito para la especie.

El VG en aves silvestres ha sido estudiado principalmente desde un punto de vista descriptivo, habiendo pocos estudios que relacionen directamente el VG con la condición de las aves (Fair *et al.* 2007). Campbell (1994) establece que valores bajo el 35% indicarían cuadros de anemia y sobre el 55% cuadros de policitemia en aves. El trabajo realizado por Ibáñez *et al.* (2015) determinó los valores promedio de VG para las tres especies de Pygoscelidos en colonias simpátricas de península Potter, los cuales fueron del 45 al 50%. Aparentemente los valores de VG de pingüinos Pygoscelidos estarían más cercanos al límite superior del rango descrito para aves, lo cual se refuerza con la publicación de D'Amico *et al.* (2016) quienes obtuvieron valores promedio de VG de 55.6 ± 0.7 % en pingüinos Adelia y de 52.2 ± 1.2 % en pingüinos Papúa, ambos pertenecientes a Punta Stranger, si bien los autores no evaluán a fondo el porqué de estas diferencias, si se sugiere que todas las diferencias hematológicas (incluida RLT, como se mencionó con anterioridad) entre estas dos especies se basan en el alto y diverso parasitismo del que el pingüino Papúa es objeto. El grupo Pp obtuvo un valor promedio de VG de 48.3 ± 9.3 % y una mediana igual a 50%, valores semejantes a los previamente descritos por estudios en la misma especie y a los publicados por Najle *et al.* (2006) en pingüinos Papúa de la isla Rey Jorge (península antártica) con un valor promedio de 49.7 ± 5.3 %. En cuanto a las otras dos especies, el valor promedio de VG obtenido para los grupos de pingüinos Adelia fueron 44,4 % y 54,1 % en ARD y BO, respectivamente, mientras que en pingüinos Barbijo los promedios fueron de 43,3 % en pingüinos de esta especie pertenecientes a PN y 49,2% en los pertenecientes a SH y BO. Para todos los casos los valores de VG se encuentran dentro del rango de referencia para aves (Campbell 1994). Se describe que este parámetro por sí sólo no es suficiente para evaluar la salud en aves, ya que puede verse afectado tanto por factores externos como por cambios fisiológicos (edad, estado reproductivo, etc), es por eso que fue evaluado junto a otros factores (Bearhop *et al.* 1999; Fair *et al.* 2007).

El ACP realizado al grupo Pa- ARD seleccionó las primeras tres componentes y ninguna de ellas se correlacionó con H/L, mientras que para el grupo Pb-SHBO, la segunda componente seleccionada (CP2), dentro de la cual los parámetros VG y RLT son los de mayor contribución, se correlacionó significativamente con el parámetro H/L. Los parámetros VG y RLT son parámetros usados clínicamente para evaluar estatus sanitario de las aves (Galvez *et al.* 2009). Para todos los grupos de este estudio, los valores promedio de VG se encuentran dentro de los valores normales descritos (Campbell 1994, Gálvez *et al.* 2009). Por otra parte, el recuento leucocitario total (RLT) permite establecer un índice de valoración de la función defensiva y del estado general del individuo, aunque sus intervalos de referencia muestran gran variabilidad entre especies e incluso dentro de un mismo género (Campbell & Ellis 2006). La leucocitosis ocurre en aves como resultado de: enfermedades bacterianas, enfermedades fúngicas, estrés, desórdenes degenerativos y neoplasias (Gálvez *et al.* 2009). La leucocitosis es un conteo leucocitario alto, el caso de las aves se describe superior a 60.000 cel/ μ l (Campbell & Ellis 2006). La leucopenia (bajo conteo leucocitario) se presenta cuando existen conteos leucocitarios totales menores a 300 cel/ μ l, considerado anormalmente bajo para cualquier especie de ave (Clarck *et al.* 2009). Ninguno de los grupos de pingüinos de este estudio mostró valores indicativos de leucocitosis o leucopenia en aves. Hawkey *et al.* (1985) determinaron un valor promedio de RLT para pingüinos Papúa sanos de 6.000 cel/ μ l y de 11.200 cel/ μ l para pingüinos enfermos. En pingüinos Adelia adultos se determinó un valor promedio de RLT de 49.200 ± 3.700 cel/ μ l y en pingüinos Papúa de 76.000 ± 3.900 cel/ μ l, en colonias simpátricas de Punta Stranger, esta diferencia significativa entre las especies se explicaría porque el pingüino Papúa es mayormente parasitado que el pingüino de Adelia lo que incrementaría el promedio de RLT según los autores (D'Amico *et al.* 2016). Palacios *et al.* (2018) determinaron valores promedio de RLT en pingüinos Barbijo durante la época de reproducción que fue igual a 44.800 ± 8.900 cel/ μ l (11 machos y 8 hembras) y durante la etapa de muda

que fue igual a 55.040 ± 7.840 cel/ μ l en machos (N=14) y de 91.390 ± 9.840 cel/ μ l en hembras (N=9). Aparentemente los valores de RLT de pingüinos son altos en relación al intervalo de referencia para aves, posiblemente porque se describe que en aves de menor tamaño, menores son los recuentos de RLT (Galvez *et al.* 2009).

Los grupos Pb-PN y Pa-BO resultaron ser los que mostraron valores de H/L más altos, y aun cuando los ejemplares de cada grupo pertenecen a especies diferentes, no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Aparentemente el parámetro H/L y en consecuencia la respuesta al estrés es menos estable en el caso de pingüinos Adelia y Barbijo, aunque no es posible decir lo mismo para pingüinos Papúa. La tendencia de este parámetro en poblaciones de la especies *P. adeliae* y *P. antartica* son similares, Minias *et al.* (2019) determinan que H/L es también un parámetro evolutivo en aves, aves altamente emparentadas y evolutivamente recientes poseen mayores valores promedio de H/L, esto podría explicar la similitud antes indicada, sin embargo la taxonomía actual reportada para el género *Pygoscelis* determina que *P. antartic* y *P. papua* son especies hermanas, mientras que *P. adeliae* lo sería con el antecesor común de las otras dos especies (Ksepka *et al.* 2006). En el caso de los ejemplares de pingüinos Barbijo, los pingüinos del grupo Pb-SHBO están menos estresados que los del grupo Pb-PN. En la especie *P. antartica* se han descrito factores de distinta naturaleza, que estarían afectando sus poblaciones; uno de los más predominantes es la perturbación y estrés que produce la presencia humana en las colonias, tanto turistas como investigadores y aviones (Martín *et al.* 2004). La presencia humana produce respuestas antidepredatorias en pingüinos, es decir induce una respuesta de escape y estrés (Frid & Dill 2002). Las localidades SH y BO reciben menos visitas anuales que la localidad de PN, las dos primeras sólo reciben visitantes con fines científicos y militares, y en específico SH fue protegida a partir de la década de los 90 por ser una Zona De Especial Interés Científico dado que en una misma área

coexistían grandes colonias de pingüinos, lobos finos de un pelo y pesquerías de krill (Aguayo & Torres 1996; INACH 2016a; INACH 2016c; ZAEP 149). Por otra parte, PN a pesar de ser una Zona Antártica Especialmente Protegida, ha sido blanco de visitas no autorizadas, principalmente turísticas, cuando los pingüinos se encuentran en época reproductiva, las cuales ascenderían a 110 personas al año, según lo reportado por Peter *et al.* (2005).

En el caso del grupo Pb-PN, con el mayor valor de H/L, y por tanto sometido a mayor estrés, sólo la componente principal 1 se correlacionó con el parámetro H/L, dicha componente está representada principalmente por los parámetros P e ICC. La mediana para el parámetro peso en este grupo fue de 5,4 kg y el promedio de $5,3 \pm 0,6$ kg. En la especie *P. antarctica* se describe un rango de peso de 3,5 a 5,5 kg (Peter *et al.* 2005). El estudio realizado por Croll *et al.* (2006) en *P. antarctica* adultos pertenecientes a isla Seal (Islas Shetland del Sur), determinó el valor promedio del peso de esta colonia durante tres años consecutivos (1990, 1991, 1992) obteniendo un valor promedio máximo de 4,0 kg y mínimo de 3,8 kg. Si bien los pesos obtenidos en este estudio para ambos grupos de *P. antarctica* (Pb-PN y Pb-SHBO) son mayores a los descritos en los estudios previamente citados en la misma especie, su índice de condición corporal muestra una tendencia diferente. Las condiciones corporales reflejadas en los valores de ICC del grupo Pb-PN están por debajo de los valores esperados según los residuales de la regresión lineal entre P y L, con una mediana determinada de -1,8 y la media $-1,8 \pm 0,57$, mientras que en el grupo Pb-SHBO el valor promedio es similar, de $-1,6 \pm 0,42$. El tamaño y número de poblaciones de pingüinos Barbijo de la Península Antártica ha declinado en las últimas décadas (Lynch *et al.* 2012). Esta especie pasa gran parte de los meses de invierno en el océano, alimentándose principalmente de krill asociado a la capa de hielo oceánica superficial (ice pack) que se forma en esta época (Martínez *et al.* 2013). A consecuencia del calentamiento global y el consecuente

aumento de temperatura en el océano y aire, el ice pack alcanza a descongelarse aún en invierno (Smith & Stammerjohn 2001). Es en invierno cuando algunos pingüinos pasarían por periodos de escasos de krill, que incluso los llevarían a la muerte (Forcada *et al.* 2006; Hinke *et al.* 2007; Trivelpiece *et al.* 2011). Esto ocurre en toda la península antártica independientemente de los micromambientes de cada colonia, es posible que los ejemplares de esta especie muestreados no logren recuperar su peso y condición física después del invierno, además teniendo en cuenta que en el momento del muestreo se encontraban en período reproductivo, el cual también es crítico.

Gran parte de los trabajos que evalúan condición corporal en pingüinos Pygoscelidos utilizan como índices los residuales de la regresión lineal entre masa y medidas morfométricas como: largo de ala, ancho de ala, largo de pico, ancho de pico y largo total entre otros (Watanuki *et al.* 2003; Cockrem *et al.* 2006; Cottin *et al.* 2012; González- Acuña *et al.* 2013). Existen diversas maneras de determinar un índice de condición corporal en aves, pero cuales estimaciones funcionan mejor, es materia de debate (Brown *et al.* 1996). Los métodos predictivos (como la regresión lineal simple) que usan el peso y otra variable morfométrica explicarían un poco menos del 50 % de la variación de la grasa en aves (evaluando condición corporal como reservas grasas), mientras que el peso o masa corporal en sí es un predictor de condición corporal igualmente efectivo y fácil de obtener (Green 2001; Peig & Green 2010; Labocha & Hayes 2012). En el caso del grupo Pb-PN es posible que los valores promedio de H/L obtenidos estén indicando la existencia de eventos o estímulos que desencadenen estrés, pero tomando en cuenta que el peso o la masa corporal puede ser un buen indicador de condición corporal y su correlación con el parámetro H/L, la respuesta al estrés aún no ha llegado a producir una merma en las reservas de energía (grasas) de los ejemplares del grupo.

Los datos obtenidos por este estudio muestran ciertas tendencias, en que pingüinos

Adelia pertenecientes a BO y Barbijo pertenecientes a PN muestran niveles de estrés mayores (mayores valores promedios de H/L), el parámetro H/L ha sido utilizado principalmente como índice de estrés, al vincularlo con parámetros complementarios representativos de estatus sanitario (RLT, PPT y VG) y condición corporal (ICC y P), se puede observar que en definitiva la condición en sí no parece ser deficiente en relación a la de los demás grupos, así como al comparar con otros estudios en pingüinos Pygoscelidos, por lo tanto estos pingüinos si bien están generando una respuesta al estrés, no existe una sobrecarga alostática y por tanto no ha mermado la condición.

Uno o varios estresores pueden llevar a los pingüinos a un estado alostático, el cual puede identificarse como valores de H/L más elevados (McEwen & Wingfield 2003; Herring & Gawlik 2007). La sobre carga alostática, que ocurre cuando no es posible cubrir la cantidad de energía y nutrientes que el organismo necesita para llevar a cabo funciones que le permitan seguir su ciclo normal de vida y a su vez, sobreponerse a eventos impredecibles y potencialmente nocivos, sólo afecta la condición de los ejemplares cuando es del tipo II (McEwen & Wingfield 2003; Blas 2015). La sobrecarga alostática tipo II es aquella que se mantiene volviéndose crónica, resultando normalmente en sobrecarga alostática que lleva a estados patológicos e inclusive la muerte (McEwen & Wingfield 2003; Blas 2015).

Los valores de los parámetros estudiados muestran que existe un franco estado alostático en pingüinos de los grupos Pa-BO y Pb-PN, basado en sus niveles de H/L, sin embargo al evaluar los parámetros complementarios asociados a condición no puede asegurarse que exista una sobrecarga alostática tipo II, pero si posiblemente una sobrecarga alostática tipo I, la cual es un estado transicional (corta duración), después del cual el individuo puede restablecer su homeostasis y reservas energéticas (McEwen & Wingfield 2003; Blas 2015).

En ese sentido, el valor de H/L entendido como un índice de estrés, puede junto a otros factores representativos de estado nutricional y sanitario, entregar un panorama sobre la condición general de un individuo, es por eso que ningún factor por sí sólo entrega suficiente información sobre la condición, así como la cronicidad de la respuesta al estrés no puede evaluarse sólo con el parámetro H/L (Fair *et al.* 2007, Clarck *et al.* 2009). En el caso del presente estudio, los valores de H/L de todos los grupos están dentro de lo descrito por la bibliografía existente para pingüinos Pygoscelidos, al igual que su variación (Hawkey *et al.* 1985, Vleck *et al.* 2002, Ibáñez *et al.* 2015, D'Amico *et al.* 2016) (Anexo 1).

A nivel poblacional existe casi un completo consenso en la bibliografía respecto de que poblaciones y número de individuos de las especies *P. adeliae* y *P. antartica* muestran una tendencia a la baja, mientras que en el caso de *P. papua* la tendencia es inversa (Klems *et al.* 2005; Forcada *et al.* 2006; Peter *et al.* 2008; Forcada & Trathan 2009; Lynch *et al.* 2012; Lynch & LaRue 2014; Juarez *et al.* 2015; Sierakowski *et al.* 2017). Dado que la condición de las tres especies de Pygoscelidos son similares, es decir, se encuentran dentro de lo descrito por la literatura en cada especie y por tanto no serían condiciones fisiológicas desfavorables, es posible que la explicación a estas tendencias poblacionales disimiles sea una respuesta diferencial ante eventos de gran impacto como los “eventos climatológicos extremos”, que son definidos como aquellos que ocurren con una frecuencia menor al 5% para una región en específico y que a nivel biológico producen el aumento de tasas de mortalidad y disminución del éxito reproductivo (Wingfield *et al.* 2017). Aparentemente la especie *P. papua* es más resiliente ante estos eventos que la especie *P. adeliae*, mientras que para la especie *P. antartica* no se registran casos que evalúen resiliencia en la bibliografía, pero a juzgar por su dinámica poblacional sería similar a *P. adeliae* (Pistorius *et al.* 2010; Hinke *et al.* 2014; Wingfield *et al.* 2017).

El nivel de estrés experimentado por pingüinos Papúa es sólo menor al comparar con pingüinos Adelia de la localidad de península Ardley y pingüinos barbijo de las localidades de Cabo Shirref y Base Bernardo O'Higgins. Este punto podría indicar que la especie *P. papua* mantiene una respuesta similar al estrés, independientemente de la localidad, y posiblemente de las estresores. Respecto de la condición de los ejemplares de las tres especies, se encontraría dentro de lo esperado para cada especie al comparar con la literatura existente, por tanto las condiciones serían equivalentes en las tres especies. La asociación del parámetro H/L con los parámetros que fueron utilizados como indicadores de condición, permite establecer si existe relación entre respuesta al estrés y mermas a nivel nutricional o inmunológico. Sólo se pudo establecer una correlación significativa en dos grupos de los 5 analizados, en Pb-SHBO en que H/L se correlacionó con la componente principal 2 representada principalmente por VG y RLT; y en el grupo Pb-PN en que H/L se correlacionó de manera significativa con la componente principal 1 representada principalmente por P e ICC. Es posible que en la especie *P. antarctica* sea más sensible al estrés y este afecte más directamente la condición nutricional e inmunológica, razón por la que la relación H/L está correlacionada con algunos parámetros representativos de ambas condiciones.

En el futuro se deben dirigir esfuerzos para realizar estudios que puedan correlacionar factores indicadores de estrés, condición, nutricionales y reproductivos, a mayor escala poblacional, para poder dilucidar a que responden las dinámicas poblacionales. De la misma forma, es importante establecer valores de corte o intervalos, que permitan interpretar bien el índice H/L por especie (posiblemente a través de estudios tipo caso/control), ya que el grupo de las aves es demasiado diverso como para esperar que aves estresadas de todas las especies muestren los mismos valores de H/L.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto INACH T-12-13, proyecto INACH T-27-10 y CONICYT PCHA/Magíster Nacional.



LITERATURA CITADA

AGUAYO, A. & D. TORRES. 1966. A first census of Pinnipedia in the South Shetland Islands and other observations on marine mammals. In: SCAR / SCOR / IAPO / IUBS Symposium on Antarctic Oceanography, Santiago, Chile, 13-16 September 1966, Section 4: Coastal Waters: 166-168.

AINLEY, D., J. RUSSELL, S. JENOUVRIER, E. WOehler, P. LYVER, W.R. FRASER & G.L. KOOYMAN. 2010. Antarctic penguin response to hábitat change as Earth's troposphere reaches 2° C above preindustrial levels. Ecological society of America 80(1): 49- 66.

ALMEIDA, J., J. ARAÚJO, J. CERQUEIRA, C. GUEDES, V. SANTOS, A. C. BATISTA, S. FERNANDEZ & S. R. SILVA. 2015. Relación entre la condición corporal y medidas de grasa y de músculo obtenidas por ultrasonografía en tiempo real con vacas de raza barrosa. AIDA 1: 48-50.

AARI: Federal Program "World Ocean", Subprogram "Antarctic Research and Investigation", Russian Antarctic Expedition (2006), Arctic and Antarctic Research Institute (AARI).

BARGAGLI, R. 2008. Environmental contamination in Antarctic ecosystems. Science of the total environment 400(1): 212-226.

AZIS, A. 2012. Performance and heterophil to lymphocyte (H/L) ratio profile of broiler chickens subjected to feeding time restriction. Internacional Journal of Poultry Science, 11: 153-157

BLAS, J. 2015. Stress in birds. Chapter 33 in Sturkie's avian pathology. Elsevier. Academic Press. Wisconsin, EEUU. Pp: 769-809.

BAUER, T.G. 2001. Tourism in the Antarctic: Opportunities, constraints and future prospects. The Haworth Hospitality Press. London. Pp: 30-33.

BEARHOP, S., R. GRIFFITHS & R. FURNESS. 1999. Mean corpuscular volumen (MCV) as a measure of condition in birds. Ecology Letters 2(6): 352-356.

BEISSINGER, S.R. & D.R. MCCULLOUGH. 2002. Population viability analysis. Universidad de Chicago ediciones, Chicago, EEUU pp: 577.

BEVAN, R.M., J. P. BUTLER, A.J. WOAKES & I.L. BOYD. 2002. The energetics of Gentoo penguins, *Pygoscelis papua*, during the breeding season. Functional Ecology 16(2): 175-190.

BIUW, M., C. LYDERSEN, P.J. NICO DE BRUYN, A. ARRIOLA, G.G. HOFMEYR, P. KRITZINGER & K.M. KOVACS. 2009. Long-range migration of a chinstrap penguin from Bouvetøya to Montagu Island, South Sandwich Islands. Antarctic Science 22:157

BLACK, C. 2016. A comprehensive review of the phenology of *Pygoscelis* penguins. Polar Biology 39 (3): 405-432.

BLAHA, T. 2005. Animal health and animal health care concepts changing over time. Deutsche tierärztliche Wochenschrift 112(8): 284-5.

BOCKHEIM, J.G. 2015. The soils of Antarctica. Editorial Springer, Wisconsin, E.E.U.U. Pp: 215-216.

BOERSMA, D. E. E. 2008. Penguins as Marine Sentinels 58(7): 597–607.

BRACEGIRDLE, T.J., D.B. STEPHENSON, J. TURNER & T. PHILLIPS. 2015. The importance of sea ice area biases in 21st century multimodel projections of Antarctic temperature and precipitation. Geophysical research letters 42(1): 24-26.

BRAUN, M. & R. HOCK. 2004. Spatially distributed surface energy balance and ablation modelling on the ice cap of King George Island (Antarctica). Global and Planetary Change 42 (1): 45-58.

BRAUN, C., O. MUSTAFA, A. NORDT, S. PFEIFFER & H.U. PETER. 2012. Environmental monitoring and management proposals for the fildes region (King George Island, Antarctica). Polar Research 31(1): 22-26.

BROWN, M.E. 1996. Assessing body condition in birds. Currents of Ornithology 13(1): 67-135.

CAMPBELL, T.W. 1994. Cytology. In Ritchie, B.W., Harrison, G.J. & Harrison, L.R. (eds) Avian Medicine: Principles and Applications: 199–221.

CAMPBELL, T.E. & C. ELLIS. 2006. Hematology of birds. In: Campbell T, Ellis C, eds. Avian and Exotic animal hematology and cytology. 3rd ed. Oxford, UK. Pp: 3-50.

CLARCK, P., W. BOARDMAN & S. RAIDAL. 2009. Atlas of clinical avian hematology. Wiley-Blackwell. Primera edición. Oxford, United Kingdom. Pp: 53-96.

CLARK, P. 2015. Observed variation in the heterophil to lymphocyte ratio values of birds undergoing investigation of health status. *Comparative Clinical Pathology* 24(5): 1151-1157.

CLARKE, J., K. KERRY, C. FOWLER, R. LAWLESS, S. EBERHARD & R. MURPHY. 2003. Post-fledging and winter migration of Adelie penguins *Pygoscelis adeliae* in the Mawson region of East Antarctica. *Marine Ecology Progress Series* 248(1) :267–278

COCKREM, J.F. 2005. Conservation and behavioral neuroendocrinology. *Hormonal Behavior* 48(1): 492–501.

COCKREM, J.F., M.A. POTTER & E. J. CANDY. 2006. Corticosterone in relation to body mass in Adelie penguins (*Pygoscelis adeliae*) affected by unusual sea ice conditions at Ross Island, Antarctica. *General and Comparative Endocrinology* 149(1): 244-252.

COOKE, S. J., G.H. SCOTT, M. WIKELSKI, R.D. ANDREWS, L.J. KUCHEL, T.G. WOLCOTT & P.J. BUTLER. 2004. Biotelemetry: a mechanistic approach to ecology. *Trends in ecology & evolution* 19(6): 334-343.

COTTIN, M., B. RAYMON, A. KATO, F. AMELINEAU, Y. LE MAHO, T. RACLOT, B. GALTON-FENZI, A. MEIJERS & Y. ROPERT- CUDERT Y. 2012. Foraging strategies of male Adelie penguins during their first incubation trip in relation to environmental conditions. *Marine biology* 159(8): 1843- 1852.

CROLL, D.A., D.A. DEMER, R.P. HEWITT, J.K. JANSEN, M.E. GOEBEL & B.R. TERSHY 2006. Effects of variability in prey abundance on reproduction and foraging in chinstrap penguins (*Pygoscelis antarctica*). *Journal of Zoology* 269(4): 506-513.

CUNNINGHAM, J.G. & B.G. KLEIN. 2009. *Fisiología Veterinaria*. Cuarta edición. Editorial Elsevier. Barcelona, España. Pp: 652-661.

D'AMICO, V.L., N. CORIA, M.G. PALACIOS, A. BARBOSA & M. BERTELLOTTI. 2016. Physiological differences between two overlapped breeding antarctic penguins in a global change perspective. *Polar Biology* 39(1): 57-64.

DAVIS L.S., J.T. DARBY & R. GROSCALOS. 1990. *Penguin Biology: Metabolic adaptations to fasting*. Pp 275–282.

DAVIS, G.S., K.E. ANDERSON & A.S. CARROLL AS. 2000. The effects of long term caging and molt of single comb white leghorn hens on heterophil to lymphocyte ratios, corticosterone and thyroid hormones. *Poultry Science* 79: 514-518.

DAVIS A.K., K.C. COOK & S. ALTIZER. 2004. Leukocyte profiles in wild house finches with and without Mycoplasma conjunctivitis, a recently emerged bacterial disease. *EcoHealth* 1: 362-373.

DAVIS, A. 2005. A comparison of age, size, and health of house finches captured with two trapping methods. *Journal of Field Ornithology* 76(4): 339-344

DAVIS, A., D. MANEY & J. MAERZ. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 22: 760-772.

DHABHAR, F.S., A.H MILLER, B.S. MCEWEN & R.L. SPENCER. 1995. Effects of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *Journal of Immunology* 154: 5511-5527.

DHABHAR, F.S. 2008. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection versus immunopathology. *Allergic, asthma & clinical immunology* 4(1): 2-11.

DOUGLAS, H. J., G.L. KRAPU, K.J. REINECHE & D.G. JORDE. 1985. An evaluation of condition indices for birds. *The Journal of Wildlife Management* 49(3): 569-575.

DUNCAN, P., K.S. LATIMER, E.A. MAHAFFEY, K.W. PRASSE. 2005. *Patología Clínica Veterinaria*. 4ta edición, Editorial Multimédica, USA. Pp: 32-41.

DUNNING, J.B. 2007. *CRC Handbook of Avian body masses*. Segunda edición. CRC Press. Boca Ratón, E.E.U.U. Pp: 109-114.

ELSTON J.J, BECK M., ALODAN M.A, VEGA-MURILLO V. 2000. Laying hen behavior 2. Cage type preference and heterophil to lymphocyte ratios. *Poultry Science* 79: 477–482.

EWENSON, E.L., R.A. ZANN & G. FLANNERY. 2001. Body condition and immune response in wild zebra finches: effects of capture, confinement and captive-rearing. *Naturwissenschaften* 88(1): 391-394.

FAIR, J., S. WHITAKER & B. PEARSON. 2007. Sources of variation in haematocrit in birds. *Ibis* 149: 535–552.

FALLON, J., E. SMITH, N. SCHOCH, J. PARUK, A. ADAMS, D. EVERS, P. JODICE, C. PERKINS, S. SCHULTE & W. HOPKINS. 2018. Hematological indices of injury to lightly oiled birds from the deepwater horizon oil spill. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry* 37(2): 451-471.

FEFFERMANN, N. & L. M. ROMERO. 2013. Can physiological stress alter population persistence? A model with conservation implications. *Conservation biology* 1(1): 1-13.

FERNIE, K. & D. BIRD. 2001. Evidence of oxidative stress in American Kestrels exposed to electromagnetic field. *Environmental Research* 86(2): 198-207.

FIGUEROLA, B. 2013. Biodiversity and chemical ecology in Antarctic bryozoans. Tesis doctoral, programa de doctorado en biodiversidad animal, Universidad de Barcelona.

FLORES, H.A., S.K. KAWAGUCHI, B.A. MILINEVSKY, G. NICOL & V. CIRELLI. 2012. Impact of climate change on Antarctic krill. *Marine ecology progress series* 458(1): 1-19

FORCADA, J., P.N. TRATHAN, K. REID, E.J. MURPHY & J.P. CROXALL. 2006. Contrasting population changes in sympatric penguin species in association with climate warming. *Global Change Biology* 12(1): 411-423.

FORCADA, J & F. TRATHAN. 2009. Penguin responses to climate change in the Southern Ocean. *Global change biology* 15(1): 1618-1630.

FOWLER, M.E. & Z.S. CUBAS. 2001. Biology, Medicine, and Surgery of South American wild animals. Wiley. Pp 60.

FRID, A. & L.M. DILL. 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conservation Ecology* 90: 143-149.

FUDGE, A. 1994. Blood testing artifacts: prevention and interpretation. *Seminars in avian and exotic pet med.* 3(1):2-4.

GALVEZ, C., G. RAMIREZ & J. OSORIO. 2009. El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. *Biosalud* 8: 178-188.

GIAMBELLUCA, S., M. CAMMARATA, D. SALVATORE, O. TIZIANA, A. CAMIÑA-CARDENAL & I. VAZZANA. 2016. The impact of captivity on some haematological parameters of griffon vultures (*Gyps fulvus*). *Veterinaria Italiana* 53(3): 243-249.

GOEBEL, M.E., M. RUTISHAUSER, B. PARKER, A. BANKS, D.P. COSTA, N. GALES & R.S. HOLT. 2000. Pinniped research at Cape Shirreff, Livingston Island, Antarctica, 1999/2000. In Lipsky, J. (ed) AMLR (Antarctic Marine Living Resources) 1999-2000 Field Season Report, Ch. 8. Antarctic Ecosystem Research Division, Southwest Fisheries Science Center, La Jolla, California.

GOEBEL, M.E., B. PARKE, A. BANKS, D.P. COSTA & R.S. PISTER B. HOLT. 2001. Pinniped research at Cape Shirreff, Livingston Island, Antarctica, 2000/2001. In Lipsky, J. (ed) AMLR (Antarctic Marine Living Resources) 2000-01 Field Season Report, Ch. 8. Antarctic Ecosystem Research Division, Southwest Fisheries Science Center, La Jolla, California

GOESSLING, J.M., H. KENNEDY, M.T. MENDOCA, A.E. WILSON. 2015. A meta-analysis of plasma corticosterone and heterophil: lymphocyte ratios-is there conservation of physiological stress responses over time? *Functional ecology* 29(9): 1189-1196.

GONZÁLEZ-ACUÑA, D., J. HERNÁNDEZ, L. MORENO, B. HERRMANN, R. PALMA, A. LATORRE, G. MEDINA-VOGEL, M. KINSELLA, N. MARTÍN, K. ARAYA, I. TORRES, N. FERNANDEZ & B. OLSEN. 2013. Health evaluation of wild gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) in the antarctic península *Polar Biology* 36(12): 1749-1760.

GOSLER, A. G. 1996. Environmental and social determinants of winter fat storage in the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology* 65(1): 1– 17.

GREEN, A.J. 2001: Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? *Ecology Society of America* 82(5): 1473-1483.

GROOMBRIDGE, J.J., J.G. MASSE, J.C. BRUNCH, T.R. MALCOLM, C.N. BROSIUS, M.M. OKADA & B. SPARKLIN. 2004. Evaluating stress in a Hawaiian honeycreeper, *Paroreomyza montana*, following translocation. *Journal of Avian Medical Surgery* 75: 183–187.

GROSS, W.B. & H.S. SIEGEL. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. *Avian Disorders* 27: 972-979.

HAWKEY, C., H.J. SAMOUR, G.M. HENDERSON & M.G. HART. 1985. Haematological findings in captive gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) with bumblefoot. *Avian Pathology* 14(1): 251-256.

HINKE, J.T., K. SALWICKA, S.G, TRIVELPIECE, G.M., G.M. WATTERS & W.Z. TRIVELPIECE. 2007. Divergent responses in *Pygoscelis* penguins reveal a common environmental driver. *Oecologia* 153(1): 845-855.

HORAK, P., L. SKAS, I. OTS & H. KOLLIST. 2002. Repeatability of condition indices in captive greenfinches (*Carduelis chloris*). *Canadian Journal of Zoology* 80(4): 636-643.

INACH (2016, marzo). *Base General Bernardo O'Higgins*. Recuperado en <http://www.inach.cl/proyectos/wp-content/uploads/2012/06/base-ohiggins.pdf> [2019, 7 de junio]

INACH (2016, marzo). *Base Gabriel González Videla*. Recuperado en <http://www.inach.cl/proyectos/wp-content/uploads/2012/06/base-ggv.pdf> [2019, 7 de junio]

INACH (2016, marzo). *Base Guillermo Man*. Recuperado en <http://www.inach.cl/inach/wp-content/uploads/2013/12/base-mann.pdf> [2019, 7 de junio].



JARA- CARRASCO, S., GONZÁLEZ, M., GONZÁLEZ-ACUÑA, D. & CHIANG, G. 2015. Potential immunohaematological effects of persistent organic pollutants on chinstrap penguin. *Antarctic science* 27(4): 373-381.

JEFFERSON, T. H., K. SALWICKA, S.G. TRIVELPIECE, G. WATTERS & W.Z. TRIVELPIECE. 2007. Divergent responses of *Pygoscelis* penguins reveal a common environmental driver. *Oecologia* 153(1): 845-855.

JEREZ, S. J. 2012. Los pingüinos: bioindicadores de la contaminación ambiental en la península Antártica e islas asociadas. *Pnas* 281(4), 1–30.

JOHNSTONE, C.P., R.D. REINA & A. LILL. 2012. Interpreting índices of physiological stress in free-living vertebrates. *Journal of Comparative Physiology B*. 182(7): 861-879

JUAREZ, M.A., M. SANTOS, J. NEGRETE, J.A. MENNUCCI, P.J. PERCHIVALE, R. CASAUX & N.R. CORIA. 2015. Adelie penguin population changes at stranger point: 19 years of monitoring. *Antarctic Science* 27(5): 455-461.

KERRY, K.R. & M.J. RIDDLE. 2009. *Health of Antarctic wildlife*. 1ra edición. Editorial Springer. Heidelberg, Alemania. Pp: 195-201.

KIDSTON, J., A.S. TASCHETTO, D.W. THOMPSON & M.H. ENGLAND. 2011. The influence of Southern hemisphere sea-ice extent on the latitude of the mid-latitude jet stream. *Geophysical research letters* 38(1): 15-19.

KINDT, T.J., R.A. GOLDSBY & B.A. OSBORNE .2007. *Inmunología de Kuby*. Sexta edición. McGraw-Hill interamericana editores, México DF, México.

KING, J.C. & J. TURNER. 2007. *Antarctic meteorology and climatology*. 1ra edición. Cambridge university press, Cambridge, UK. Pp: 68-75.

KOOYMAN, G.L. 2002. Evolutionary and ecological aspects of some antarctic and sub-antarctic penguin distributions. *Oecologia* 130(1): 485-495.

KNOX, G.A. 2007. Biology of southern Ocean. Segunda edición. CRC press. London, England Pp: 2-3.

KNOX, G.A. 1980. Plate tectonics and the evolution of intertidal and shallow-water benthic biotic distribution patterns of the southwest pacific. *Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology* 31(1): 267-297.

KRANENDONK, G., H. HOPSTER, F. EDENBURG, K. VAN REENEN, M. FILLERUP, J. GROOT, M. KORTE & M.TAVERNE. 2005. *American Journal of Veterinarian Research* 66: 780- 790.

KSEPKA, D.T., S. BERTELLI & N.P. GIANNINI. 2006. The phylogeny of the living and fossil Sphenisciformes (penguins). *Cladistics* 22(1): 412-441.

KUSCH, A. & M. MARÍN. 2012. Sobre la distribución del Pingüino Rey *Aptenodytes patagonicus* (Aves: Spheniscidae) en Chile. *Anales instituto patagonia*. 40(1): 157-163.

LABOCHA, M. & J. HAYES .2012. Morphometric indices of body condition in birds: a review. *Journal of Ornithology* 153 (1): 1-22.

LAWS, R.M. 1984. Antarctic ecology. Academic press. Londres, Inglaterra. Pp: 34-51.

LAZARUS, R.S. 1993. From psychological stress to the emotions: A history of changing outlooks. In: Porter, L.W., M.R. Rosenzweig, (Eds.), *Annual Review of Psychology*. Pp: 44: 1-21

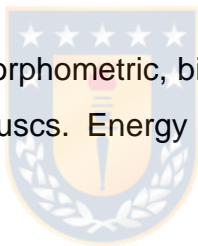
LUDWIG, S.C., K. KAPETANOUPoulos & K. KOTRSCHAL. 2017. Effects of mate separation in female and social isolation in male free-living Greylag geese on behavioral and physiological measures. *Behavior Science* 138: 134-141.

LYNCH, H.J., R. NAVEEN, P. TRATHAN & W.F. FAGAN. 2012. Spatially integrated assessment reveals widespread changes in penguin populations on the Antarctic peninsula *Ecology* 93(6): 1367-1377.

LYNCH, H.J. & M.A. LARUE. 2014. First global census of the Adelie penguin. *Ornithological Advances*. 131(1): 457-466.

MALLORY, M.K., C. LITTLE, E.S. BOYD, J. BALLARD, K.H. ELLIOTT, H.G. GILCHRIST, J.M. PETERSEN & D. SHUTLER. 2015. Leucocyte profiles of arctic marine birds: correlates of migration and breeding phenology. *Conservation Biology* 3(1): 1-11.

MANN, R. 1978. A comparison of morphometric, biochemical and physiological indexes of condition in marine bivalve molluscs. *Energy and environmental stress in aquatic systems* 48(1): 484-492



MARCUS, L. & M. CORTI. 1996. Overview of the new, or geometric morphometrics. Plenum Press. Primera edición. New York, E.E.U.U.

MARTÍN, J.M., L. DE NEVE, J.A. FARGALLO, V. POLO & M. SOLER. 2004. Factors affecting the escape behaviour of juvenile chinstrap penguins, *Pygoscelis antárctica*, in response to human disturbance. *Polar Biology* 27(12): 775-781.

MARTIN-SERRANO, A., M. MONTES, F. NOZAL & R. VALLE. 2005. Geomorfología de la costa austral de Bahía Espereanza (península Antártica). *Geogaceta* 38(1): 95-98.

MARTÍNEZ, I., D.A. CHRISTIE, F. JUTGLAR & E.F.J. GARCIA. 2013. Chinstrap Penguin (*Pygoscelis antarcticus*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.) *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. (Retrieved from <http://www.hbw.com/node/52460> on 3 December 2014).

MASON, P.A. & S.J. LEGG. 1999. Antarctic tourism: Activities, impacts, management issues and a proposed research agenda. *Pacific Tourism Review* 3: 71-84.

MASSOM, R.A. & S.E. STAMMERJOHN. 2010. Antarctic sea ice change and variability– physical and ecological implications. *Polar Science* 4(2): 149-186.

MCEWEN, B.S. & J.C. WINGFIELD. 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behaviour* 43(1):2–15.

MCEWEN, B.S. & J.C. WINGFIELD. 2010. What's in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and Behaviour* 57(2): 105.

MERINO S. 1999. Obtención de muestras sanguíneas para el estudio de las interacciones hospedador- parásito. *Temas actuales de etología* 17 (1): 21-30.

MERINO, S. & A. BARBOSA .1997. Haematocrit values in chinstrap penguins (*Pygoscelis antarctica*): variation with age and reproductive status. *Polar Biology* 17(1): 14-16.

MILLER, A.K., N.J. KARNOVSKY & Z.T. WAYNE. 2009. Flexible foraging strategies of gentoo *Pygoscelis papua* over 5 years in the south shetland islands antartica. *Marine Biology* 156(12): 2527-2537.

MELIÁN, C. 2014. Diagnóstico del Hiperadrenorticismo (Síndrome de Cushing). *Hospital Clínico Veterinario ULPGC* 2: 1-10

MEYER, B., V. FUENTES, C. GUERRA, K. SCHMIDT, A. ATKINSON, S. SPAHIC & U. BATHMANNA. 2009. Physiology, growth, and development of larval krill *Euphausia superba* in autumn and winter in the Lazarev Sea, Antarctica. *Limnology and Oceanography* 54(5): 1595-1614.

MITCHELL, E. & M. JHONS. 2008. Avian hematology and related disorders. *Veterinary Clinics of north america: exotic animal practice* 11(3): 501-522.

MOBERG, G.P. & J.A. MENCH. 2000. *The biology of animal stress: basic principles and implications for animal welfare*. CABI Publisher. Nueva York, EEUU. Pp: 23-40.

MORTON, M.L. 1994. Haematocrits in montane sparrows in relation to reproductive schedule. *Condor* 96: 119-126.

MØLLER, A., P.H. CHRISTE, J. ERRITZØE, J. MAVAREZ. 1998. Condition, Disease and Immune Defence. *Oikos*, 83(2), 301-306.

NICOL, S., J. FOSTER & S. KAWAGUCHI S. 2011. The fishery for Antarctic krill- recent developments. *Fish and fisheries* 13(1): 30-40.

NYLEN, T.H., A.G. FOUNTAIN & P.T. DORAN. 2004. Climatology of katabatic winds in the mcmurdo dry valleys, southern Victoria land, Antarctica. *Climate and dynamics* 109(3): 1-9.

ONBASILAR, E.E. & AKSOY F.T. 2005. Stress parameters and immune response of layers under different cage floor and density conditions. *Livestock Production Science* 95:255-263.

OIE (2015, agosto). *Sanidad animal, un desafío múltiple*. Recuperado en https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Key_documents/ANIMAL-HEALTH-ES-FINAL.pdf [2019, 22 de agosto]

OWEN, J.C. & F.R. MOORE. 2006. Seasonal differences in immunological condition of three species of thrushes. *Condor* 108: 389-398.

PARDO, C.J. & A. NIETA. 2015. Turismo antártico: Naturaleza y Ciencia en los confines del turismo contemporáneo. *Anales de Geografía* 35(1): 139-168.

PARGA, M.L., H. PENDL & N.A. FORBES. 2001. The effect of transport on hematologic parameters in trained and untrained Harris's Hawks (*Parabuteo unicinctus*) and Perigrine Falcons (*Falco peregrinus*). *Journal Avian Medical Surgery* 15: 162–169.

PETER, H.U., C. BUSSER, O. & S. PFEIFFER S. 2005. Preliminary Results of the Research Project "Risk assessment for the Fildes Peninsula and Ardley Island and the development management plans for designation as ASMA (unpublished survey results presented at the Fildes meeting at INACH).

PFAFF, J.A., L. ZANETTE, S.A. MACDOUGALL-SHACKLETON & E.A. MACDOUGALL-SHACKLETON. 2007. Song repertoire size with HVC volumen and is indicative of male quality in song sparrows (*Melospiza melodia*). Proceedings of the royal society B 274(1621): 2035-2040.

PIERCE, B.A. 2009. Genética, un enfoque conceptual. 3ra edición, editorial medica panamericana. Buenos aires, Argentina. Pp: 99-133.

PEIG, J. & J. GREEN. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. Oikos 118: 1883-1891.

PISTORIUS, P.A., N. HUIN & S. CROFTS. 2010. Population change and resilience in Gentoo penguins *Pygoscelis papua* at the falkland islands. Marine Ornithology 38(1): 49-53.

QUICK, J.C., J.D. QUICK, D.L. NELSON & J.J. HURRELL. 1997. Preventive stress management in organizations. Washington DC, American physiological association.

QUILLFELDT, P., G. RUIZ, M. AGUILAR & J.F. MASELLO. 2008. Variability in leucocyte profiles in thin-billed prions *Pachyptila belcheri*. Comparative Biochemistry and physiology a molecular & integrative physiology 150(1): 26-31.

REID, K., J.P. NATHAN, J.P. CROXALL & H.J. HILL. 1996. Krill caught by predators and nets: differences between species and techniques. Marine Ecology Progress Service 140(1): 13-20.

RENNER, M., J. VALENCIA, L.S. DAVIS, D. SAEZ & O. CIFUENTES O. 1998. Sexing adult Gentoo Penguins in Antarctica using morphometrics. *Colonial Waterbirds* 21: 444–449.

ROMERO L.M. 2004. Physiological stress in ecology lessons from biomedical research. *Trends in ecology & evolution* 19(1): 249-255.

ROMERO, L.M., M.J. DICKENS & N.E. CYR. 2009. The reactive scope model- a new model integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and Behaviour* 55(1): 375-389.

ROMERO, L.M. 2012. Using the reactive scope model to understand why stress physiology predicts survival during starvation in Galapagos marine iguanas. *General and comparative endocrinology* 176(1): 296- 299.

ROPERT-COUDERT, Y., A. KATO, J. BAUDAT, C. BOST, Y. LE MAHO & Y. NAITO. 2001. Feeding strategies of free- ranging Adelié penguins *Pygoscelis adeliae* analysed by multiple data recording. *Polar Biology* 24(6): 460-466.

ROPERT-COUDERT, Y., A. KATO, X. MEYER, M. PELLE, A.J. MACINTOSH, F. ANGELIER, O. CHASTEL, M. WIDMAN, B. ARTHUR, B. RAYMONF & T. RACLOT. 2014 A complete breeding failure in an Ade´lie penguin colony correlates with unusual and extreme environmental events. *Ecography* 37(1): 1– 3.

RUIZ, G.J. 1994. *Fundamentos de hematología*. 4ta edición, editorial médica panamericana, Buenos Aires, Argentina. Pp: 13-20.

SÁNCHEZ, R.A. 2007. Antartida: introducción a un continente remoto. Editorial albatros. Buenos aires, Argentina. Pp: 62.

SANDOVAL, G., J. TERRAES, F. REVIDATTI, R. FERNANDEZ, C. GUANA & M. GLAMUZINA. 2003. Hematocrito, relación heterófilo-linfocito e inmovilidad tónica en pollos con estrés psico-físico crónico criados en jaulas. Comité Científico Tecnológico 26:1-3

SCHRECK, C.B. 2010. Stress and reproduction: the roles of allostasis and hormesis. General and Comparative Endocrinology 165(1): 5449-556.

SCHRECK, C.B. & L. TORT. 2016. The concept of stress in fish. Fish Physiology 35(1):1- 34.

SCHLEUCHER, E., R. PRINZINGER & P. WITHERS. 1991. Life in extreme environments: Investigations on the ecophysiology of a desert bird, the Australian Diamond Dove (*Geopelia cuneata*). Oecología 88: 72-76.

SCHULZ, J.H., A.J. BERMUDEZ, J.L. TONLINSON, J.D. FIRMAN & Z. HE. 1998. Effects of implanted radiotransmitters on captive mourning doves. Journal of Wildlife Management 62: 1451- 1460.

SCHULZ, J.H., J.J. MILLSPAUGH, A.J. BERMUDEZ, X. GAO, T.W. BONNOT, L.G. BRITT & M. PAINE. 2006. Acute lead toxicosis in mourning doves. Journal Wildlife Management 70: 413- 421.

SCOTT, R.M., C.GUGLIELMO, B. PIERCE & M. KLASSEN. 2004. Flying, fasting, and feeding in birds during migration: a nutritional and physiological ecology perspective. *Journal of Avian Biology* 35(5): 377-393.

SELYE, H. 1976. *The stress of life*. McGraw-Hill. Nueva York, EEUU. Pp: 137-147.

SICK, H. 2001. *Ornitologia Brasileira*. (3a. ed.). Editora Nova Fronteira. Río de Janeiro, Brasil

SIERAKOWSKI, K., M. KORCZAK-ABSHIRE & K. JADWISZCZAK. 2017. Changes in Bird communities of Admiralty Bay, King George island. (West antartic): insights from monitoring data (1977-1996). *Polish Polar Research* 38(2): 231-262.

SMITH, R.C. & S.E. STAMMERJOHN.2001. Variation on surface air temperature and sea ice extent in the western Antarctic Peninsula (WAP) region. *Annals of Glaciology* 33(1): 439-500.

SIMPSON, G.G. 1976. *Penguins: past and present, here and there*. Yale University press. Yale, E.E.U.U. Pp: 12-17.

STEIG, E.J., D.P. SCHNEIDER, R.D. RUTHERFORD, M.E. MANN, J.C. COMISSO, D.T. SHINDELL. 2009. Warming of the Antarctic icesheet surface since the 1957 International Geophysical Year. *Nature* 457:459-463.

STERLING, P. & J. EYER. 1988. Allostasis a new paradigm to explain arousal pathology. *Handbook of Life stress cognition and health*. Fisher, S., Reason, J. editores. Jhon Wiley and sons. Inc., New York. Pp: 629-650.

TAKAHASHI, A., M.J. DUNN, P.N. TRATHAN, K. SATO, Y. NAITO & J.P. CROXALL . 2003. Foraging strategies of chinstrap penguins at signy Island, Antarctica: importance of benthic feeding on Antarctic krill. *Marine ecology progress series* 250(1): 279-289.

TANTON, J.K., K. REID, J.P. CROXALL & P.N. TRATHAN .2004. Winter distribution and behaviour of gentoo penguins *Pygoscelis papua* at South Georgia. *Polar Biology* 27(5): 299-303.

TRIVELPIECE, W.Z., J.T. HINKE., A.K. MILLER., C.S. REISS., S.G. TRIVELPIECE & G.M. WATTERS. 2011. Variability in krill biomass links harvesting and climate warming to penguin population changes in Antarctica. *PNAS* 108(1): 7625-7628.

TURNER, J., S.R. COLWELL, G.J. MARSHALL, T.A. LACHLAN-COPE, A.M. CARLETON, P.D. JONES, V. LAGUN, P.A. REID & S. IAGOVKINA. 2005. Antarctic climate change during the last 50 years. *International Journal of Climatology* 25: 279-294

TURNER, J., J.C. COMISO, G.L. MARSHALL, T.A. LACHLAN-COPE, T. BRACEGIRDLE, T. MAKSYM & A. ORR, A. 2009. Non-annular atmospheric circulation change induced by stratospheric ozone depletion and its role in the recent increase of Antarctic sea ice extent. *Geophysical Research Letters*, 36(8).

TURNER, J. & G.J. MARSHALL. 2011. *Climate change in the polar regions*. 1ra edición. Cambridge university press, Cambridge, UK. Pp: 345-357.

TURNER, J., S.R. COLWELL, G.J. MARSHALL, T.A. LACHLAN-COPE, A.M. CARLETON, P.D. JONES, V. LAGUN, P.A. REID & S. LAGOVKINA. 2005. Antarctic

climate change during the last 50 years. *International Journal of Climatology* 25(3): 279-294.

TRATAN, N.T. & S.L. HILL. 2016. The importance of krill predation in the Southern Ocean. *Biology and ecology of Antarctic Krill*. Editorial springer. Cambridge, UK. Pp: 321-350.

TORRES D. & A. AGUAYO. 1993. Impacto antrópico en cabo Shirreff, isla Livingston, Antártica. *Boletín Antártico Chileno* 49(1): 93-108

VANSTREELS, R.E., F.R. MIRANDA, V. RUOPPOLO, A. O. ALMEIDA, E.S. COSTA, A. RODRIGUEZ, J.P. MACHADO, L.S. TEXEIRA, R. PIUCO, V.H. VALIATI, D. GONZÁLEZ-ACUÑA, M.B. LABRUNA, M.V. PETRY, S. EPIPHANIO & J.L. CATAO. 2014. Investigation of blood parasites of pygoscelid penguins at the King George and Elephant islands, South Shetland archipelago, Antarctica. *Polar Biology* 37(1): 135-139.

VLECK, C.M. & D. VLECK. 2002. Physiological condition and reproductive consequences in Adelie penguins. *Integrative and Comparative Biology* 42(1): 76-83.

WALKER, B.G., BOERSMA, P.D. & J.C. WINGFIELD. 2005. Physiological and behavioral differences in Magellanic Penguin chicks in undis-turbed and tourist-visited locations of a colony. *Conservation Biology* 19(1): 1571–1577.

WARNE, R.W., G.A. PROUDFOOT & E.J. CRESPI. 2015. Biomarkers of animal health: integrating nutritional ecology, endocrine ecophysiology, ecoimmunology, and geospatial ecology. *Ecology and Evolution* 5(3): 557-566.

WATANUKI, Y. 1993. Mortality of eggs and nest attendance pattern in Adelie penguins in Lutzow–Holm Bay. *Sociedad japonesa de aves* 42:1–8.

WATANUKI, Y., A. TAKAHASHI, K. SATO, K. KATO & C. BOST. 2003. Inter-colony and sex differences in the effects of parental body condition and foraging effort on the brood growth of Adelie penguins. *Journal of Ethology* 22(1): 91-98.

WERNER, R. 2015. Penguins and krill-life in a changing ocean. *Journal of Antarctic Affairs* 1(1): 37.

WILCOXEN, E.T., J.D. HORN, B.M. HOGAN, C.N. HUBBLE, S.J. HUBER, J. FLAMM, L. LUNDSTROM, F. SALIK, S.J. WASEENHOVE & E. WROBEL. 2015. Effects of bird-feeding activities on the health of wild birds. *Conservation Physiology* 3(1): 1-6.

WILSON, R. 1997. A method for restraining penguins. *Marine Ornithology*. 25: 72-73.

WINGFIELD, J.C., HUNT, K., BREUNER, C., DUNLAP, K., FOWLER, G.S., FREED, L. & J. LEPSON. 1997. Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. In JR Clemmons, R Buchholz, eds, *Behavioral Approaches to Conservation in the Wild*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 95–131.

WINGFIELD, J.C., J.H. PEREZ, J.S. KRAUSE, K.R. WORD, P.L. GONZÁLEZ-GÓMEZ, S.LISOVSKI & H.E. CHMURA. 2016. How birds cope physiologically and behaviorally with extreme climatic events. *Philosophical Transactions B* 372: 1-10

XIE, S., L.M. ROMERO, Z.W. HTUT & T.J. MCWHORTER. 2017. Stress responses to heat exposure in three species of Australian desert birds. *Physiology, Biochemistry & Zoology* 90: 348-358.

ZAEP 149. Protocolo al Tratado Antártico sobre Protección del Medio Ambiente. 1991. Medida II, anexo H. Pp: 171-192.

ZAEP 150. Protocolo al Tratado Antártico sobre Protección del Medio Ambiente. 1991. Medida IX, anexo H. Pp: 2-14

ZAEP 171. Protocolo al Tratado Antártico sobre Protección del Medio Ambiente. 1991. Medida XI, anexo V. Pp: 1-20.

ZAMORA, C. SERÓN, L. LABARTA, I.G. RAMÍREZ DE ARELLANO, A. LANDER & M.I. MARQUINA. 2015. Respuesta al soporte nutricional de una población de pacientes críticos; diferencias entre pacientes médicos y quirúrgicos. *Nutrición Hospitalaria* 27(4):1197.



ANEXOS

Anexo 1: Revisión bibliográfica del parámetro H/L en pingüinos Pygoscelidos en diferentes estudios.

Autor	Año	Especie	N	H/L promedio	H/L rango	Localidad
Hawkey <i>et al.</i>	1985	<i>P. papua</i>	14	2,3	1,27- 5,25	Islas Malvinas
Vanstreels <i>et al.</i>	2013	<i>P. antarctica</i>	10	1,09	0,41- 1,68	Demay point
			7	0,63	0,52 - 0,74	Isla Keller
		<i>P. papua</i>	18	1,33	0,93 – 1,73	Demay point
			24	1,08	0,62 -1,54	Isla Keller
Jara-Carrasco <i>et al.</i>	2015	<i>P. antarctica</i>	45	1,1	0,9-1,87	Península antártica
D'Amico <i>et al.</i>	2016	<i>P. papua</i>	20	1,6	0,6 – 4,9	Punta Stranger
		<i>P. adeliae</i>	20	1,1	0,3- 4	Punta Stranger
Propio	2013	<i>P. papua</i>	279	1	0,2 – 2,6	ARD, GGV, BO
		<i>P. antarctica</i>	147	0,8	0,3 - 2	SH, BO
			88	1,2	0,4 – 2,7	PN
		<i>P. adeliae</i>	25	0,6	0,1 – 2,3	ARD
			66	1,2	0,4- 3,1	BO

Estrés y condición: diferencias en indicadores entre machos y hembras de pingüinos Papúa (*Pygoscelis papua*)

RESUMEN

Durante la época estival (enero y febrero) del año 2011 fueron muestreados 279 ejemplares adultos de la especie *Pygoscelis papua* capturados en tres localidades en la Península Antártica: Base Bernardo O'Higgins ubicada en Rada Covadonga, cabo Legoupil (63° 19' 15" S; 57° 53' 55" O), península Antártica, Base Gabriel González Videla ubicado en Bahía Paraíso, península Antártica (64° 49' 26" S; 62° 51' 26" O) y Península Ardley (isla Rey Jorge (62° 12' S; 58° 53' O). Se evaluó si existían diferencias significativas en los niveles de estrés de ambos sexos a través de la comparación del parámetro H/L, y para evaluar la condición de los ejemplares de cada sexo, se compararon los valores de los parámetros: Volumen globular (VG), recuento leucocitario total (RLT), peso (P), largo (L) e índice de condición corporal (ICC). Para todas las comparaciones se utilizó una prueba de comparación de Wilcoxon. Los niveles de H/L de machos y hembras no resultaron ser diferentes con promedios de 1,04 para machos y 1,02 para hembras. En cuanto a la condición sólo se encontraron diferencias significativas en los parámetros físicos: L, P e ICC ($p < 0,05$), y no para VG o RLT. El parámetro ICC resultó ser significativamente menor en hembras con una media de -0,3 en comparación a machos con una media de 0,03, sin embargo ambos valores resultan estar muy cercanos al valor 0 que para este tipo de indicador resulta representar una condición corporal óptima.

Palabras clave: *Pygoscelis papua*, estrés, condición, sexos, H/L.

ABSTRACT

Adult specimens of the *Pygoscelis papua* species belonging to three localities in the Antarctic peninsula were used: Base Bernardo O'Higgins (located in Rada Covadonga, Cape Legoupil (63° 19 '15' 'S; 57° 53' 55 " W) Antarctic peninsula), Gabriel González Videla Base (located in Bahía Paraíso, Antarctic peninsula (64° 49 '26' 'S, 62° 51' 26 " W), and Ardley peninsula (Rey Jorge Island (62° 12 'S, 58° 53' W) A total of 279 penguins were sampled during the summer (January and February) of the year 2011. Significant differences were evaluated in the stress levels of both sexes through the comparison of the H / L parameter. Also condition was evaluated through the comparison of the parameters: Globular volume (VG), White blood count (WBC), weight (P), length (L) and body condition index (ICC). A Wilcoxon test was used for all comparasions. The levels of H / L of males and females were not different, with averages of 1.04 for males and 1.02 for females. Regarding the condition, only significant differences were found in the physical parameters L, P and ICC ($p < 0.05$). The ICC parameter was found to be significantly lower in females with a mean of -0.3 compared to males with a mean of 0.03, however both values are very close to the value 0 that for this type of indicator is to represent a condition optimal body

Keywords: *Pygoscelis papua*, stress, condition, sexes, H/L

INTRODUCCIÓN

En animales vertebrados, los estresores son múltiples, y las vías fisiológicas que en consecuencia se activan son, en general, las mismas para todos los animales (Bokony *et al.* 2009). Sin embargo las respuestas concretas al estrés y la condición, que pueden evaluarse a través de indicadores, frecuentemente difieren de individuo en individuo (Klein & Romeo 2013). El análisis comparativo de la respuesta al estrés entre sexos se ha llevado a cabo en diferentes especies animales (Abbot *et al.* 2003; Goymann & Wingfield 2004). Esta comparación se basa en grandes y pequeñas disimilitudes en su ciclo de vida, que en el caso de los pingüinos difiere entre sexos, principalmente en la etapa reproductiva (Williams 1995). En las tres especies de pingüinos Pygoscelidos, el ciclo reproductivo puede dividirse en 5 etapas (Lescroël *et al.* 2009): (1) etapa pre-reproductiva, que incluye el cortejo, la formación de la pareja y la construcción del nido, lo que supone mayor gasto energético para los machos; luego de la cópula, y la puesta de huevos comienza la Incubación (2), momento en que ambos miembros de una pareja se alternan para incubar sus huevos (Knox 2007). Con la eclosión (3) comienza la tercera etapa en que ambos padres realizan turnos para incubar huevos y luego alimentar a sus pichones, los cuales todavía están en el nido y dependen de ellos para protección, mantenimiento de la temperatura y alimentación. Más tarde los pichones se agrupan con otros formando “guarderías” (4), mientras ambos padres forrajean y retornan regularmente para alimentarlos y, por último, la fase (5) en que los pichones mudan el plumón por la pluma y parten al mar por primera vez (Lescroel *et al.* 2009).

Las principales diferencias en cuanto a pérdida y recuperación energética comienzan a forjarse desde la formación y postura de huevos, donde la hembra se encuentra en ayuno, al igual que el macho, pero además debe producir vitelina, sustancia base para la formación de la yema (Reynolds & Waldron 1999). Además el macho puede

recuperar peso y condición corporal más rápidamente que la hembra, ya que pueden sustentar tanto la alimentación de sus polluelos como la propia, mientras que la hembra sólo alimenta a sus crías (Loescroel *et al.* 2009).

Estas diferencias sentan la base para comenzar a estudiar la relación que existe entre el sexo de los ejemplares de *P. papua* y parámetros hematológicos que permitan caracterizar y comparar tanto el estrés al que se ven sometidos, como si la respuesta a este afecta o no su condición (Takahachi *et al.* 2003; Velandó *et al.* 2003; Fair *et al.* 2007).

La relación H/L (heterófilo/linfocito) se ha usado en aves y vertebrados para evaluar estrés, resultando ser un indicador tan veraz como la medición de cortisol plasmático, pero con ventajas prácticas ya que la manipulación de los ejemplares no afectaría su valor (Sandoval *et al.* 2003). Por otra parte, la evaluación de condición en aves se ha realizado a partir de distintos parámetros que en conjunto entregan mayor información que en forma individual (Giambelluca *et al.* 2016).

El recuento leucocitario total (RLT) y el volumen globular (VG) permiten establecer, en primer lugar la condición inmunitaria de los ejemplares, y la eficiencia en la captación y transferencia de energía (Davis *et al.* 2008). Ambos parámetros pueden verse afectados por infecciones bacterianas, trastornos gastrointestinales, hemorragias, deficiencias nutricionales de minerales como el hierro o el cobre (Galvez *et al.* 2009), pero además el VG puede variar según factores como edad, sexo y estatus reproductivo (Fair *et al.* 2007).

Durante gran parte de la etapa de reproducción de los pingüinos existe una pérdida energética importante, debido al ayuno que realizan durante el proceso de muda, postura, incubación y en algunos casos crianza (Bevan *et al.* 2002). Es por eso que este período puede afectar considerablemente la condición de un individuo lo que

puede evaluarse a través de aspectos físicos y fisiológicos asociados a las reservas energéticas (Peig & Green 2009; Melian *et al.* 2014). En algunos casos los pingüinos llegan a perder hasta el 45% de su masa corporal, afectando la condición corporal y en consecuencia la condición general de los ejemplares (Fowler & Cubas 2001; Kerry & Riddle 2009).

Evaluar las diferencias fisiológicas que muestran machos y hembras de una misma especie ante períodos naturalmente estresantes como la crianza, permiten puntualizar valores que sólo se han descrito a nivel de especie y además permite determinar cuales son los puntos críticos durante la reproducción de los pingüinos, cuyo manejo es crucial para que la reproducción sea exitosa.

HIPOTESIS

Dado que los requerimientos energéticos en edad reproductiva difieren entre pingüinos machos y hembras principalmente desde la incubación y hasta la crianza, se encontrará diferencias en niveles de estrés (H/L) y condición entre pingüinos *P. papua* machos y hembras adultos de la Península Antártica e islas sub-antárticas,

OBJETIVO GENERAL

Determinar los niveles de estrés experimentados por machos y hembras adultos de la especie *P. papua*, a través de la evaluación del parámetro H/L.

Evaluar la condición de machos y hembras adultos en época reproductiva de la especie *P. papua*, a través de los parámetros: ICC, P, L, RLT y VG.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar valores de H/L en pingüino machos y hembras adultos de la especie *P. papua*
- Determinar valores de referencia por sexo para los parámetros VG, RLT, L, P e ICC en pingüino adultos de la especie *P. papua*
- Establecer si existen diferencias significativas en los parámetros H/L, VG, RLT, P, L e ICC, entre pingüinos Papúa adultos machos y hembras en época reproductiva.

METODOLOGÍA

Durante los meses de enero y febrero fueron muestreados 279 ejemplares adultos de la especie *Pygoscelis papua* pertenecientes a tres localidades en la península Antártica: Base Bernardo O'Higgins (ubicada en Rada Covadonga, cabo Legoupil 63° 19' 15" S; 57° 53' 55" O) península Antártica), Base Gabriel González Videla (ubicado en Bahía Paraíso, península Antártica 64° 49' 26" S; 62° 51' 26" O), y Península Ardley (isla Rey Jorge 62° 12' S; 58° 53' O), durante la época de anidamiento y crianza. La metodología empleada fue descrita previamente en el trabajo de tesis, dado que se trata de la misma muestra.

Los datos morfométricos (peso P, largo L, índice de condición corporal ICC) y hematológicos (volumen globular VG, recuento leucocitario total RLT, H/L) obtenidos fueron los mismos que se describieron con anterioridad a excepción de las proteínas plasmáticas totales (PPT), las cuales en este grupo no fue posible obtener. Además los parámetros VG y RLT sólo pudieron obtenerse en el caso de algunos ejemplares pertenecientes a la Base Bernardo O'Higgins y Península Ardley, esto debido a que en

la base Gabriel González Videla no existía el equipo necesario para la determinación de estos parámetros.

Para la determinación del sexo de los ejemplares se utilizó dos pares de cebadores diferentes para amplificar las regiones del gen CHD1 que se encuentran en los cromosomas sexuales. Se usó el par de cebadores P8 (50-CTC CCA AGG ATG AGR AAY TG-30) y P2 (50-TCT GCA TCG CTA AAT CCT TT-30) que se ha establecido para la mayoría de las especies de aves (Griffiths *et al.* 1998); y el par de cebadores PL (50-CCC AAG GAT GAT AAA TTG TGC-30) y PR (50-CAC TTC CAT TAA AGC TGA TCT GG-30) desarrollado para algunas especies de pingüinos (Zhang *et al.* 2012). Todas las reacciones de PCR se realizaron en una máquina de biosistemas aplicada, según Reis *et al.* (2011). En los pingüinos, para las bandas CHD1-Z y CHD1-W, los cebadores P2 / P8 amplificaron un fragmento de 374 y 392-pb y PL / PR un fragmento de 276 y 294-pb, respectivamente (Zhang *et al.* 2012). Todas las condiciones de amplificación y el perfil se realizaron de acuerdo con Valenzuela-Guerra *et al.* (2013) con reacciones de 30 ul y la mezcla de contenido de 10 a 100 ng de ADN genómico. Para ambos pares de cebadores, la reacción de la mezcla también contiene: 1 mM de cada cebador, 0,25 U de ADN polimerasa Taq, 2 mM MgCl₂, tampón de PCR 1X y dNTP 0,2 mM. El perfil de amplificación de PCR para esto fue de 94 ° C durante 2 minutos, seguido de 40 ciclos de 94 ° C durante 45 s, 50 ° C durante 45 s, 72 ° C durante 45 minutos en una etapa final de 72 ° C para 5 min (Reis *et al.* 2011). Todos los productos de PCR se cargan en gel de agarosa al 3% con tampón SB (Brody y Kern 2004), pero también en gel de acrilamida al 12% no desnaturizante (acrilamida 99: 1: bis-acrilamida), y sí durante el 0,5 horas a 300 V, y 3 ha 300 V, respectivamente. Posteriormente, los geles de agarosa se visualizan con el transiluminador UV, mientras que los geles de acrilamida se tiñeron con nitrato de plata.

La distribución de ambos grupos: machos (M) y hembras (H), para cada parámetro (P, L, ICC, RLT, VG) fue determinada a través de una prueba de bondad de ajuste. Una vez determinada la distribución de cada grupo en cada parámetro, se determinó si existían o no diferencias significativas entre sexos a través de una prueba no paramétrica de Wilcoxon, ya que en todas las comparaciones hubo al menos un grupo de distribución no paramétrica. Los análisis previamente descritos fueron realizados en el programa estadístico JMP 14.

RESULTADOS

Al comparar machos y hembras respecto del parámetro H/L no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$). La estadística descriptiva de este parámetro se describe en la Tabla 14.

El análisis para el parámetro VG, demostró que los valores obtenidos para ambos grupos (machos y hembras) tampoco difieren significativamente ($p > 0,05$). El mismo resultado se obtuvo para el parámetro RLT ($p > 0,05$). Mientras que dentro de los parámetros P, L e ICC, se encontraron diferencias significativas en el parámetro L ($p < 0,05$), con promedio y mediana más altos para el grupo de machos (Tabla 14). En cuanto a los parámetros P e ICC también se determinaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sexos, encontrándose valores promedio más altos en machos para ambos parámetros (Tabla 14).

Tabla 14. Estadística descriptiva de parámetros H/L, VG, RLT, P, L e ICC en pingüinos Papúa adultos machos y hembras.

Parámetro	Sexo	N	Media	DE	Mediana	Mínimo	Máximo	IC sup 95%	IC inf 95%
H/L	M	133	1,04	0,64	0,9	0,2	4,1	1,1	0,93
	H	133	1,02	0,60	0,9	0,2	2,7	1,1	0,92
RLT	M	66	5669	2989	5200	1750	14200	6404	2989
	H	58	5124	2310	5050	1000	12500	5732	4516
VG	M	65	48,4	9,9	50	20	67,3	50,8	45,9
	H	54	48,7	8,0	49,5	20	63,2	50,8	46,5
L	M	140	74,5	5,1	76,1	56,1	82,1	73,6	75,3
	H	134	71,3	5,3	73,1	56,2	83,1	72,6	70,8
P	M	140	5,3	1,2	5,3	5,1	8,8	5,6	5,1
	H	133	5,0	0,9	4,9	3,6	7,8	5,1	4,8
ICC	M	140	0,03	1,26	0,05	-5,3	3,41	0,2	-0,1
	H	133	-0,3	0,9	-0,43	-1,59	2,5	-0,1	-0,45

N tamaño de la muestra, M grupo ejemplares *P. papua* machos, H grupo ejemplares *P. papua*, H/L relación heterófilo- linfocito, RLT recuento leucocitario total, VG volumen globular, L largo total, P peso corporal, ICC índice de condición corporal, DE desviación estándar, IC sup 95% intervalo de confianza superior de 95 %, IC inf 95% intervalo de confianza inferior de 95%..

DISCUSIÓN

Los niveles de H/L determinados no difieren significativamente entre ambos sexos. Moreno *et al.* (1998) evaluó diferencias en la respuesta inmune de machos y hembras de pingüinos Barbijo y tampoco encontró diferencias significativas en los niveles de H/L machos y hembras. En pingüinos penacho amarillo, se utilizó una variante de la relación H/L, en el cual se contabilizaron todos los granulocitos (heterofilos, eosinofilos y basófilos) y fueron divididos por el número de linfocitos, determinándose que las hembras de esta especie tenían valores de G/L (granulocitos/linfocitos) significativamente mayores a los de los machos en la etapa de incubación individual de los huevos, si bien ambos sexos hacen incubación individual (no compartida) durante un lapso de tiempo, las hembras la realizan inmediatamente después de la postura de huevos, mientras los machos la realizan después de las hembras habiéndose alimentado antes, lo que podría explicar la diferencia en los niveles de estrés (Denhard *et al.* 2011). Durante la época reproductiva de los pingüinos, los mayores niveles de estrés se relacionan con periodos largos de ayuno, propios de la muda, cortejo e incubación (Mauget *et al.* 1995; MacQueen *et al.* 1999; Vleck & Vleck 2002; Denhard *et al.* 2011). En el caso de *P. papua* serán ambos padres quienes preparen y defiendan el nido para la incubación y crianza, y más tarde serán ambos quienes se turnaran para

incubar durante 35 días, una vez nacidos los polluelos ambos deberán proveer de alimento hasta que estos se independicen (a los 75 días aproximadamente, Bevan *et al.* 2002). Se describe que en aves marinas ambos padres realizan los mismos esfuerzos energéticos en el cuidado y alimentación de polluelos (Lewis *et al.* 2002). A pesar de esto, Lescroel *et al.* (2009) determinaron que pingüinos papúa hembras de las islas Crozet perdían masa corporal desde la incubación hasta que los polluelos se independizaban, mientras los machos en el mismo periodo recuperaban masa corporal, lo que se explicaría porque durante el período de crianza los pingüinos machos pueden llevar alimento a sus polluelos y alimentarse a si mismos, mientras que la hembra sólo alimentarían a sus polluelos. A pesar de esta diferencia en el requerimiento energético y ganancia de peso entre sexos de pingüinos papúa durante el período de crianza, el presente estudio no reportó diferencias significativas en los niveles de estrés mostrados por cada sexo, ambos sexos indican valores promedio de H/L cercanos a 1, valor que comparado a otros estudios en la misma especie, no indicaría estrés (Hawkey *et al.* 1985; Vansytreels 2013; D'Amico *et al.* 2016). Es posible que si bien el muestreo fue durante la época reproductiva, esta fue temprana, en algunos casos durante la incubación y en otros con polluelos pequeños, motivo por el cual aún no existía una diferencia entre sexos respecto de la cantidad de alimento obtenido y consumido, y en consecuencia en la pérdida de peso y estrés.

Dentro de los parámetros utilizados para determinar condición, sólo se encontraron diferencias significativas en los parámetros físicos, es decir, P, L e ICC ($p < 0,05$). Mientras que los parámetros VG y RLT no mostraron diferencias significativas entre sexos. Las diferencias en los parámetros P y L se sustentan en el dimorfismo sexual que presenta la especie (Knox 2007). Estas diferencias han sido suficientes como para crear funciones discriminantes con bajos porcentajes de error que permiten determinar sexo en esta especie (Williams 1990; Renner *et al.* 1998; Polito *et al.* 2012). El interés

recae sobre el parámetro ICC, que mostró que las condiciones corporales de los machos serían mejores que las de las hembras con un promedio de 0,03 en machos y – 0,3 en hembras. El estudio realizado por Cuervo *et al.* (2009) comparó machos y hembras de una colonia de pingüinos Papúa en Stranger Point en el cual se concluye que si existirían diferencias significativas en el peso de ambos grupos (machos y hembras), pero no en la relación peso/longitud, que se entiende como una medida de condición. Tanto para machos como para hembras los valores de ICC son muy cercanos a 0, es decir que sus pesos son cercanos a los esperados para su longitud, si bien las diferencias entre sexos podrían deberse a que las hembras recuperan la energía perdida durante la crianza de los polluelos más tarde que los machos (Lescroel *et al.* 2009), pero en ambos casos las condiciones corporales no son deficientes dado que el valor de ICC se encuentra cercano a cero.

En aves, existen variados estudios que intentan relacionar la variación del valor de VG con el sexo (Alonso-Alvarez *et al.* 2002; Muñoz & De la Fuente 2003; Kristiansen *et al.* 2006; Sanchez –Guzman *et al.* 2004). En el caso de las hembras se describe que el hematocrito desciende naturalmente durante las etapas de formación y postura de huevos, ya que un elevado nivel de vitotlogenina plasmática (precursor de la yema) produce un aumento del volumen sanguíneo pero no del número de eritrocitos (hemodilución) (Reynolds & Waldron 1999). En algunos casos las hembras no logran recuperar su hematocrito para el final de la temporada de crianza y es por esto que se esperan durante la temporada reproductiva valores de VG menores en hembras que en machos (Williams *et al.* 2004). Sin embargo, el estudio de Bearhop *et al.* (1999) en Skuas (*Catharacta skua*), en que ocurren los mismos procesos de formación y postura de huevos, comparó los valores de VG de machos y hembras adultos y no encontró relación entre la variación del parámetro y el sexo de los ejemplares. Muñoz & De la

Fuente (2003), tampoco encontraron diferencias en los niveles de VG de ejemplares adultos de *Larus ridibundus*.

El parámetro VG ha sido ampliamente relacionado con la condición de los individuos a la vez que da cuenta del transporte de oxígeno a los tejidos (Fair *et al.* 2007). Este estudio no registró diferencias entre sexos en este parámetro y mostró que sus valores promedios, tanto para machos como para hembras, se encuentran dentro del rango descrito como normal para aves (Campbell 1994). En el caso del parámetro RLT tampoco se encontraron diferencias significativas entre sexos y los valores descritos para cada grupo se encuentran dentro de los valores normales para aves según lo descrito por Gálvez *et al.* (2009). El parámetro ICC si mostró diferencias significativas entre grupos de ambos sexos, demostrando que las condiciones corporales de las hembras eran menores que las de los machos. Al respecto es importante tener en cuenta que el momento de muestreo fue cuando las colonias estaban con polluelos en el nido, período en que ambos padres cuidan y alimentan a sus polluelos, pero es posible que las hembras no logaran capturar suficiente comida como para alimentarse también a sí mismas, razón por la cual hayan recuperado menos condición corporal que los machos. Los parámetros evaluados para determinar condición, arrojaron valores promedio descritos por la bibliografía para aves (Campbell 1994; Gálvez *et al.* 2009), por lo que si bien la condición es ligeramente menor en hembras, en ambos casos no sería deficiente.

LITERATURA CITADA

ABBOTT, D.H., E.B. KEVERNE, F.B. BERCOVITCH, C.A. SHIVELY, S.P. MENDOZA, W. SALTZMAN, C.T. SNOWDON, T.E. ZIEGLER, M. BANJEVIC, T. GALARD & R.M. SAPOLSKY. 2003. Are subordinates always stressed? A comparative analysis of rank differences in cortisol levels among primates. *Hormones and behavior* 43(1): 67-82.

ALONSO-ALVAREZ, C., M. FERRER. J. FIGUEROLA, J. VEIRA. J. ESTEPA & L. M. TORRES. 2002. The effects of testosterone manipulation on the body condition of captive male yellowlegged gulls. *Comparative Biochemistry. Physiology* 131 a: 293–303

BEARHOP S., K. GRIFFITHS, R. & W. FURNESS. 1999. The normal haematology of great skuas (*Catharacta skua*) in the wild. *Comparative haematology international* 9(1): 107-109.

BEVAN, R.M., P.J. BUTLER, A.J. WOAKES & I.L. BOYD. 2002. The energetics of gentoo penguins, *Pygoscelis papua*, during the breeding season. 2002. *Functional ecology* 16(2): 175-190.

BOKONY, V., A.Z. LENDVAI, A. LIKER, F. ANGELIER, J.C. WINGFIELD & O. CHASTEL. 2009. Stress response and the value of reproduction: are birds prudent parents? *The American naturalist* 173(5): 589-598.

CAMPBELL, T.W. 1994. Cytology. In Ritchie, B.W., Harrison, G.J. & Harrison, L.R. (eds) *Avian Medicine: Principles and Applications*: 199–221.

CUERVO, J.J., M.J. PALACIOS & A. BARBOSA. 2009. Beak colouration as a possible sexual ornament in gentoo penguins: sexual dichromatism and relationship to body condition. *Polar biology* 32(9): 1305-1314.

D'AMICO, V.L., N. CORIA, M.G. PALACIOS, A. BARBOSA & M. BERTELLOTTI. 2016. Physiological differences between two overlapped breeding antarctic penguins in a global change perspective. *Polar biology* 39(1): 57-64.

DAVIS, A., D. MANEY & J. MAERZ. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology* 22: 760-772.

DEHNHARD, N., M. POISBLEAU, L. DEMONGIN & P. QUILLFELDT. 2011. Do leucocyte profiles reflect temporal and sexual variation in body condition over the

breeding cycle in Southern Rackhopper penguins? *Journal of ornithology* 152(1): 759-768.

FAIR, J., S. WHITAKER & B. PEARSON. 2007. Sources of variation in hematocrit in birds. *Ibis* 149(1): 535-552.

FOWLER, M.E. & Z.S. CUBAS. 2001. *Biology, Medicine, and Surgery of South American wild animals*. Wiley. Pp 60.

GALVEZ, C., G. RAMIREZ & J. OSORIO. 2009. El laboratorio clínico en hematología de aves exóticas. *Biosalud* 8: 178-188.

GIAMBELLUCA, S., M. CAMMARATA, D. SALVATORE, O. TIZIANA, A. CAMIÑA-CARDENAL & I. VAZZANA. 2016. The impact of captivity on some haematological parameters of griffon vultures (*Gyps fulvus*). *Veterinaria italiana* 53(3): 243-249.

GRIFFITHS, R., M. DOUBLE, K. ORR, & R. DAWSON. 1998. A ADN test to sex most birds. *Molecular ecology* 7(1): 1071-1075.

GOYMANN, W. & J.C.WINGFIELD. 2004. Allostatic load, social status and stress hormones: the costs of social status matter. *Animal Behaviour* 67(3): 591-602.

HAWKEY, C., H.J. SAMOUR, G.M. HENDERSON & M.G. HART. 1985. Haematological findings in captive gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) with bumblefoot. *Avian pathology* 14(1): 251-256.



KERRY, K.R. & M.J. RIDDLE. 2009. Health of Antarctic wildlife. 1ra edición. Editorial Springer. Heidelberg, Alemania. Pp: 195-201.

KLEIN, Z.A. & R.D. ROMEO. 2013. Changes in hypothalamic-pituitary-adrenal stress responsiveness before and after puberty in rats. *Hormones and behavior* 64(2): 357-363.

KRISTIANSEN, K.O., J.O. BUSTNES, L. FOLSTAD & M. HELBERG. 2006. Carotenoid coloration in Great Black-backed Gull *Larus marinus* reflects individual quality. *Journal of Avian Biology* 37(1): 6–12.

MAUGET, R., V. GARCIA & P. JOUVENTIN. 1995. Endocrine basis of the reproductive pattern of the Gentoo penguin (*Pygoscelis papua*): Winter breeding and extended laying period in northern populations. *General and comparative endocrinology* 98(1): 177-184.

MCQUEEN, S.M., S. LLOYD, D. YOUNG & G. YOUNG. 1999. Sex steroid and corticosterone levels of Adelie penguin (*Pygoscelis adeliae*) during courtship and incubation. *General and comparative endocrinology* 114(1): 11-18

MELIÁN, C. 2014. Diagnóstico del Hiperadrenorticismo (Síndrome de Cushing). *Hospital Clínico Veterinario ULPGC* 2: 1-10

MORENO, J., A. DE LEON, J.A. FARGALLO & E MORENO. 1998. Breeding time, health and immune response in the chinstrap penguin *Pygoscelis antarctica*. *Oecologia* 115(3): 312-319.

MUÑOZ, F.J. & M. DE LA FUENTE. 2003. Lymphoid distribution in the migratory gull *Larus ridibundus*. *Comparative Biochemistry Physiology* 136A: 749–756

LEWIS, S., S. BENVENUTI, L. DALL-ANTONIA, R. GRIFFITHS, L. MONEY, T.N. SHERRATT, S. WANLESS & K.C. HAMER. *Proceedings of the royal society B* 269(1): 1687-1693

LOESCROEL, A., C. BAJZAK & C. BOST. 2009. Breeding ecology of the Gentoo penguins *Pygoscelis papua* at Kerguelen archipelago. *Polar biology* 32(1): 1495-1505.

PEIG, J. & J. GREEN. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118: 1883-1891.

POLITO, M.J., G.V. CLUCAS, T. HART, W.Z. TRIVELPIECE. 2012. A simplified method of determining the sex *Pygoscelis* penguins using bill measurements. *Marine ornithology* 40(1): 89-94.

RENNER, M., J. VALENCIA, L.S. DAVIS, D. SAEZ, O. CIFUENTES. 1998. Sexing of adult Gentoo penguins in Antarctica using morphometrics. *Colon waterbirds* 21(1): 444-449

REYNOLDS, S.J. & S. WALDRON. 1999. Body water dynamics at the onset of egg-laying in the zebra finch *Taeniopygia guttata*. *Journal of Avian biology* 30(1): 1-6

TAHAKASHI, A., Y. WATANUKI, K. SATO, N. ARAI, J. NISHIKAWA & Y. NAITO. 2003. Penguins: Does working hard improve reproductive success? *Functional ecology* 17(5): 590-597.

SANDOVAL, G., J. TERRAES, F. REVIDATTI, R. FERNANDEZ, C. GUANA & M. GLAMUZINA. 2003. Hematocrito, relación heterófilo-linfocito e inmovilidad tónica en pollos con estrés psico-físico crónico criados en jaulas. *Comité Científico Tecnológico* 26:1-3

VALENZUELA-GUERRA, P., D. MORALES-MORAGA, D. GONZÁLEZ, J. VIANNA. 2013. Geographic morphological variation of gentoo penguin (*Pygoscelis papua*) and sex identification: using morphometric characters and molecular markers. *Polar biology* 36(12): 1723- 1734.

VANSTREELS, R.E., F.R. MIRANDA, V. RUOPPOLO, A. O. ALMEIDA, E.S. COSTA, A. RODRIGUEZ, J.P. MACHADO, L.S. TEXEIRA, R. PIUCO, V.H. VALIATI, D. GONZÁLEZ-ACUÑA, M.B. LABRUNA, M.V. PETRY, S. EPIPHANIO & J.L. CATAO. 2014. *Polar biology* 37(1): 135-139.

VELANDO, A. & C. ALONSO- ALVAREZ. 2003. Differential body condition regulation by males and females in response to experimental manipulations of brood size and parental effort in the blue-footed booby. *Journal of ecology* 72(5): 846-856.

VLECK, C.M. & D. VLECK. 2002. Physiological condition and reproductive consequences in Adelie penguins. *Integrative and comparative biology* 42(1): 76-83.

WILLIAMS T, D. 1990. Annual variation in breeding biology of gentoo penguins, *Pygoscelis papua*, at Bird island, South Georgia. *Journal of Zoology* 222(1): 247-258.

WILLIAMS, T.D., W.O. CHALLENGER, J.K. CHRISTIANS, M. EVANSON, O. LOVE & F VEZINA. 2004. What causes the decrease in hematocrit during egg production? *Functional Ecology* 18(1): 330–336

ZHANG, P, H.J. LIU, Q. ZHANG & X. ZHANG. 2012. Sex Identification of Four Penguin Species using Locus-Specific PCR. *Zoology biology* 32:257–261.

