

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

Instituto de Zoología
Facultad de Ciencias

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

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

CLAUDIO MARCELO VERDUGO REYES
VALDIVIA - CHILE
2004

PROFESOR PATROCINANTE: DR. ROBERTO SCHLATTER VOLLMAN

PROFESOR COPATROCINANTE: DR. FERNANDO WITTWER MENGE

PROFESOR COLABORADOR: DR. JOSEF KÖSTERS

PROFESOR CALIFICADOR: DR. PEDRO CONTRERAS BARRIGA

PROFESOR CALIFICADOR: DR. JORGE ULLOA HUEPE

FECHA DE APROBACIÓN: 19 DE MAYO DE 2004

ÍNDICE

	Página
1.- RESUMEN	1
2.- SUMMARY	2
3.- INTRODUCCIÓN	3
4.- MATERIAL Y MÉTODOS	16
5.- RESULTADOS	23
6.- DISCUSIÓN	36
7.- BIBLIOGRAFÍA	41
8.- ANEXOS	51
9.- AGRADECIMIENTOS	73



*“No podemos solucionar problemas
Usando la misma forma de pensar
Que utilizamos para crearlos.”*

Albert Einstein

1.- RESUMEN

La sangre es un tejido involucrado en la mayoría de los procesos bioquímicos del cuerpo cuyas variaciones ayudan a detectar lesiones o mecanismos alterados existentes en el organismo, realizar un diagnóstico más preciso o monitorear enfermedades en las aves. El propósito de éste estudio fue describir los valores hematológicos de Cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) de la colonia reproductiva silvestre de de mayor importancia de Sudamérica.

Se obtuvieron muestras de sangre de 46 Cisnes de cuello negro clínicamente sanos, de los cuales 17 eran inmaduros, 13 machos adultos y 16 hembras adultas, entre los meses de junio y septiembre del 2003, en el sitio Ramsar y Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, localizado en el río Cruces, Provincia de Valdivia, Chile (39° 34-49' S; 73° 02-18'; 2 - 3 m.s.n.m.). Se obtuvo sangre de la vena metatarsal media y se utilizó EDTA como anticoagulante. Los recuentos de eritrocitos (RGR) y leucocitos (RGB) totales se determinaron en una cámara estándar de Neubauer usando el método de Natt y Herrick. La concentración de hemoglobina (Hb) se analizó por la cianometahemoglobina, previa centrifugación. El hematocrito (VGA) se determinó por el método del microhematocrito. El volumen corpuscular medio (VCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHbCM) fueron calculados usando los valores previamente mencionados. Los frotis sanguíneos se tiñeron con tinción de Wright para el recuento leucocitario diferencial. Los rangos de referencia se establecieron usando la media \pm 2 desviación estándar (DE) para los valores que presentaban una distribución normal y percentiles de 2.5% y 97.5% para valores sin distribución normal.

La morfología de las células sanguíneas es similar a la de otras aves, con eritrocitos nucleados de gran tamaño y los linfocitos y heterófilos son los leucocitos más abundantes. Los límites de referencia para el Cisne de cuello negro silvestre son similares a los observados en aves del mismo Orden. Los resultados obtenidos de los análisis de laboratorio fueron los siguientes: RGR: $1.89 \pm 0.32 \times 10^6 \mu\text{l}$; VGA: $42.2 \pm 4.63 \%$; Hb: $12.72 \pm 2.03 \text{ g/dl}$; VCM: $227.8 \pm 37.3 \text{ fl}$; CHbCM: $30.1 \pm 2.9 \text{ g/dl}$; RGB: $13.2 \pm 3.4 \times 10^3 \mu\text{l}$; Linfocitos: $73 \pm 10 \%$ y $9645 \pm 2755 \mu\text{l}$; Monocitos: $2 - 11 \%$ y $116 - 2555 \mu\text{l}$; Heterófilos: $20 \pm 10 \%$ y $2658 \pm 1573 \mu\text{l}$; Eosinófilos: $0 - 3 \%$ y $0 - 317 \mu\text{l}$; y Basófilos: $0.5 \pm 0.7 \%$ y $0 - 224 \mu\text{l}$. No se observaron hemoparásitos en los frotis examinados.

Los valores obtenidos, por primera vez para el Cisne de cuello negro en estado silvestre, pueden ser utilizados como valores referenciales para futuros estudios fisiológicos y/o patológicos en esta especie.

Palabras Claves: Hematología; Valores de referencia; Cisne de cuello negro; *Cygnus melanocoryphus*; Valdivia.

2. - SUMMARY

The blood is involved in most biochemical body processes and their variation helps to detect lesions or alteration mechanisms, diagnosis and monitoring diseases in birds. The purpose of this study was to describe hematological values of the most important free-ranging Black-necked swans (*Cygnus melanocoryphus*) reproductive population in South America.

Blood samples were obtained from 46 clinically normal Black-necked swans (17 immature, 13 males adult and 16 females adult) between June and September of 2003, in the Ramsar site and Nature Sanctuary "Carlos Anwandter" located in the Cruces River, province of Valdivia, Chile (39° 34-49' S; 73° 02-18'; 2 – 3 m.a.s.l.). Medial metatarsal vein puncture was used to obtain blood with EDTA. Erythrocytes and leukocytes counts are determined in standard Neubauer chamber using Natt & Herrick's method. Hemoglobin concentration (Hb) was analyzed by cyanmethemoglobin previous centrifugation. Packed cell volume (PCV) was determined by microhematocrit method. Mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) were calculated using previous values. Blood smears were stained with Wright stain for differential leukocyte count. Reference values were established using the mean \pm 2 SD for normal distribution values and 2.5% and 97.5% percentiles for values without normal distribution.

Blood cells morphology is similar to other birds, with large nucleated erythrocytes and lymphocytes and heterophils as the most common leukocytes. Reference limits obtained for free-ranging Black-necked swan are similar the ones reported in birds of the same Order. Results obtained after laboratory analyses were: RBC: $1.89 \pm 0.32 \times 10^6 \mu\text{l}$; PCV: $42.2 \pm 4.63 \%$; Hb: $12.72 \pm 2.03 \text{ g/dl}$; MCV: $227.8 \pm 37.3 \text{ fl}$; MCHC: $30.1 \pm 2.9 \text{ g/dl}$; WBC: $13.2 \pm 3.4 \times 10^3 \mu\text{l}$; Lymphocytes: $73 \pm 10 \%$ and $9645 \pm 2755 \mu\text{l}$; Monocytes: $2 - 11 \%$ and $116 - 2555 \mu\text{l}$; Heterophils: $20 \pm 10 \%$ and $2658 \pm 1573 \mu\text{l}$; Eosinophils: $0 - 3 \%$ and $0 - 317 \mu\text{l}$; and Basophils: $0.5 \pm 0.7 \%$ and $0 - 224 \mu\text{l}$. Hemoparasites were not observed at the microscopic examination of the stained slides.

Blood values were obtained for the first time for a free-ranging Black-necked swans. It can be used as reference values for future physiological or pathological studies in this specie.

Keywords: Hematology; References Values; Black – necked swan; *Cygnus melanocoryphus*; Valdivia.

3.- INTRODUCCIÓN

El impacto de las enfermedades en la fauna silvestre han adquirido un mayor protagonismo debido a que se encuentra el aumento de la incidencia o del rango de dispersión de enfermedades aparentemente controladas y la aparición de nuevas enfermedades (Cattan, 2000). Existen múltiples signos biológicos del cambio global conducentes a la declinación de la biodiversidad a través de diversos mecanismos, tales como la simplificación y pérdida de hábitat, promoción de monocultivos, declinación de especies predadores con el consecuente incremento de especies presas convirtiéndolas en potenciales plagas y vectores de patógenos, y la dominancia de especies generalistas por sobre las especialistas (Epstein, 2002).

Producto de cambios ambientales se reduce el hábitat disponible para las aves congregándolas en sectores reducidos en que interactúan una gran variedad de especies que no resulta necesariamente favorable. Cambia el espectro trófico, teniendo que adecuarse a nuevas disposiciones ambientales y, por lo tanto, a nuevos potenciales patógenos a los que anteriormente no han estado en contacto. Dichas alteraciones provocan un efecto de mayor agresividad en poblaciones silvestres pequeñas, fragmentadas o con problemas de conservación y son responsables de una serie de eventos de importancia que llevan a la extinción de la especie, tanto a escala local como global (Daszak y Cunningham, 2002), por lo cual disminuye la diversidad animal y aumenta la vulnerabilidad a otras enfermedades emergentes infecciosas (Epstein, 2002). Al afectar la salud de un ecosistema, se afecta la resiliencia del ambiente y la de sus componentes, entre éstas las aves las que, producto de sus características gregarias, interactúan regularmente con poblaciones de animales domésticos de abasto, pudiendo crear graves problemas a la industria pecuaria. La medicina silvestre, como herramienta para la conservación, es probablemente la faceta menos importante al momento de proteger una especie determinada (Cleaveland y col. 2002; Hutchins y col. 2003), pero resulta imprescindible para el conocimiento biológico y fisiológico de especies que se encuentran en problemas de conservación, como también aquellas especies que habitan ambientes de importancia ecológica.

En medicina, el fundamento del proceso terapéutico es el establecer un diagnóstico exacto. Mientras más precisas sean los procedimientos diagnósticos empleados, más exacto será el diagnóstico obtenido y más específica la terapéutica aplicada (Kraft, 1999). El conocimiento de variables fisiológicas en especies nativas chilenas es bastante escaso, por lo que establecer el estado de salud, emitir un diagnóstico y pronóstico certero o llevar a cabo estudios de aspectos biológicos y ecológicos de una especie se dificulta por la falta de información clínica y por lo básico de estudios previos.

Para el estudio de una especie en particular y su posterior conservación, es importante tener conocimiento de los ambientes naturales que lo rodean y a las operaciones extractivas que ocurren dentro de éstas, siendo fundamental para lograr conciliar el desarrollo productivo con la conservación del medio ambiente (Parada, 2000).

En Chile existen diez macrozonas para la distribución de aves de las cuales las relacionadas con recursos hídricos, tales como islas oceánicas, ambientes marinos y aguas continentales, son las más afectadas e insuficientemente representadas por el Sistema Nacional de Áreas Protegidas por el Estado (SNASPE). Éstos poseen un sistema legal deficiente que no asegura una adecuada protección y, además, una escasa producción de información científica (Rottman y López-Calleja, 1991). Los tipos de ambiente más estudiados en Chile son las aguas continentales (lacustres, fluviales y salares) en donde predominan los humedales de tipo artificial en la zona central y los de tipo marino en la zona sur (Schlatter y col., 2001). Los humedales se definen como extensiones de marismas, pantanos, turberas y aguas de régimen natural o artificial; permanente o temporal; estancado o corriente; dulce, salobre o salado incluyendo las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda los seis metros (Convención de Ramsar, 1996; Comité Nacional de Humedales de Chile, 2000). Los humedales se cuentan entre los ecosistemas más productivos del planeta y son hábitat de numerosas especies de animales y plantas, siendo aprovechadas por el hombre para la obtención de importantes beneficios (Blanco y Canevari, 1994; Convención de Ramsar, 1996) contribuyendo, en gran medida, a la biodiversidad del planeta. Las aves que habitan dichos ambientes son buenas indicadores de cambios ambientales por lo que su monitoreo periódico permite detectar alteraciones en sus poblaciones, lo que es indicativo de alteraciones en sus hábitats (Blanco y Canevari, 1992).

Los humedales existentes en Chile poseen importantes valores desde el punto de vista del bienestar humano, científico, turístico y natural. Uno de estos sitios es la hoya hidrográfica del río Valdivia perteneciente a una cuenca transandina que desagüa los lagos Calafquén, Pirehueico, Panguipulli y Riñihue. La parte final de la cuenca hidrográfica del Río Cruces corresponde al Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, protegida por SNASPE desde 1981 y reconocida internacionalmente por la Convención sobre los Humedales como la primera de las siete áreas Ramsar * presentes en Chile (CONAF, 1999; Comité Nacional de Humedales de Chile, 2000).

* Convención Relativa a Humedales de Importancia Internacional especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas.

3.1. SANTUARIO DE LA NATURALEZA E INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA “CARLOS ANWANDTER”

El Santuario se ubica geográficamente entre los 39° 34' y 39° 49' latitud sur y los 73° 02' y 73° 18' longitud oeste, en la depresión de San José (Schlatter y Mansilla, 1998), a una altura no superior de los 2 a 3 metros sobre el nivel del mar*, en la Provincia de Valdivia. Caracterizada por zonas planas e inundadas producto del terremoto de 1960, el Santuario abarca una superficie de 4.877 hectáreas (Schlatter y Mansilla, 1998).

Se clasifica como un sistema estuarino (Schlatter, 1992) lo que corresponde a cuerpos de aguas en donde la desembocadura del río se abre a un ecosistema marino, con una salinidad intermedia y la acción de las mareas actúa como regulador biofísico (CONAF, 1999).

El Santuario, así como la mayoría de los ecosistemas acuáticos, posee una abundante flora acuática y palustre, capaz de sustentar a una gran cantidad de especies animales. Éstas crean un ambiente físico, atrapan el calor, reducen el viento, estabilizan el suelo y proveen de sustratos y alimentos para los animales. La especie vegetal de mayor abundancia es *Egeria densa* (Luchecillo) siendo la dieta principal de numerosas aves acuáticas la cual forma, junto a otras plantas sumergidas, praderas de forrajeo en la superficie acuática (CONAF, 1999).

Las características de las aguas presentan una gran diferencia entre los meses de invierno y verano (Tabla 1). Las concentraciones totales de fósforo, calcio, magnesio, sodio y de metales pesados son bajas, mientras que la de compuestos nitrogenados y de solventes orgánicos, principalmente el 1, 1, 2, 2 – tetracloro – etano, son notablemente altas. Además, se presentan altas concentraciones de elementos contaminantes de origen agrícola y pesticidas organoclorados (Geotecnia Consultores, 1995; CONAF, 1999).

TABLA 1: Características físicas y químicas de las aguas del Río Cruces (Geotecnia Consultores, 1995; CONAF, 1999):

Época del año	Temperatura (° C)	Turbidez	pH	Concentraciones de O ₂ (mg/l)
Invierno	8.5 – 10.8	Baja	6.0	10.2 – 10.4
Verano	Hasta 25	Alta	6.0 - 6.5	8.6 – 10.6

La gran productividad de plantas acuáticas y palustres ha permitido mantener un gran número de especies de animales, tanto herbívoros como depredadores, que las utilizan como alimento y refugio, siendo las aves el grupo de animales más llamativo y abundante del Santuario. Se han registrado 119 especies de aves en el humedal y en zonas aledañas, es decir, un 25 % de las especies presentes en Chile, siendo un lugar de reproducción para especies con

* Com. Pers.: Ing. Wladimir Steffen, 2004. Instituto de Zoología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

problemas de conservación y uno de los lugares que mantiene una de las poblaciones de aves acuáticas más grandes del país, convirtiéndola en un centro de dispersión de especies que permite el repoblamiento de otras zonas (CONAF, 1999).

Las aves que habitan el Santuario están representadas principalmente por las familias Ardeidae (Garzas y huairavos), Rallidae (Taguas y pidenes) y Anatidae (Cisnes, gansos y patos) (CONAF, 1999). Los Anatidae, junto a los Anhimidae (Anímidos o gritones) y Anseranatidae (Ganso overo), provienen del Orden de los Anseriformes y se dividen en dos subfamilias: Anserinae (Patos silbones, cisnes y gansos) y Anatinae (patos) (Araya y Millie, 1996). De éstas, se encuentran *Anas flavirostris* (Pato jergón chico), *Anas sibilatrix* (Pato real), *Anas cyanoptera* (Pato colorado), *Netta peposaca* (Pato negro), *Anas georgica* (Pato jergón grande) y *Cygnus melanocoryphus* (Cisne de cuello negro), entre otras. El Cisne de cuello negro es una de las aves más características y de mayor importancia del humedal, ya que es donde probablemente se reúne la población reproductiva más importante del cono sur (CONAF, 1999), convirtiéndose en una especie indicadora del estado y condición del humedal (especie bandera o flag species), en una importante herramienta de investigación y en especie símbolo del Santuario (Schlatter, 1998).

3.2. EL CISNE DE CUELLO NEGRO

El Cisne de cuello negro se describe como un cisne de color blanco, de tamaño mediano con una longitud total de 110 a 124 centímetros, de cabeza y cuello negro, presencia de carúncula frontal roja y con patas de color rosado o color carne claro, sin dimorfismo sexual excepto el tamaño (Blake, 1977; Araya y Millie, 1996; Schlatter, 1998; Narosky e Izurieta, 2003). Destacable por su silueta, es fácilmente identificable en zonas acuáticas en donde habita. Las crías son de color gris claro, mudando su plumaje a grisáceo con cuello parduzco en estado juvenil (Schlatter, 1998).

En el mundo existen, además, otras siete especies de cisnes (Scott, 1972; Bologna, 1981): cisne vulgar o mudo (*Cygnus olor*), cisne negro (*Cygnus atratus*), cisne trompetero (*Cygnus buccinator*), cisne silbador o de la tundra (*Cygnus colombianus*), cisne cantor (*Cygnus cygnus*), cisne chico o de Bewickii (*Cygnus bewickii*) y cisne coscoroba (*Coscoroba coscoroba*), presente en Chile.

3.2.1 Clasificación Taxonómica:

El Cisne de cuello negro se clasifica taxonómicamente de la siguiente forma (Scott, 1972):

Reino	Animalia
Subreino	Eumetazoa
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Clase	Aves
Superorden	Neognathae
Orden	Anseriformes
Suborden	Anseres
Familia	Anatidae
Subfamilia	Anserinae
Tribu	Cygnini
Género	Cygnus
Especie	<i>melanocoryphus</i>

3.2.2 Distribución y Hábitat:

El Cisne de cuello negro es el único representante del género *Cygnus* que habita Sudamérica (Blake, 1977). Se distribuye desde el 34° S hasta Tierra del Fuego e Islas Malvinas (Scott, 1972; Weller, 1972) abarcando el sureste de Brasil, Paraguay, Uruguay, Argentina y Sur de Chile (Blake, 1977; Schlatter, 1998). En Chile se distribuye desde el valle del Huasco (Región de Atacama) hasta la Tierra del Fuego, siendo visitante casual en el Archipiélago de Juan Fernández y en la Península Antártica (Watson, 1975; Araya y Millie, 1996; Venegas, 1991) (Figura 1).

El *Cygnus melanocoryphus* habita cuerpos de agua fresca, continentales (dulces o salobres) y marinas, de baja profundidad, relativamente protegidas y tranquilas, con abundante biomasa vegetal producto de un cierto grado de eutroficación (Corti, 1996; Schlatter, 1998).

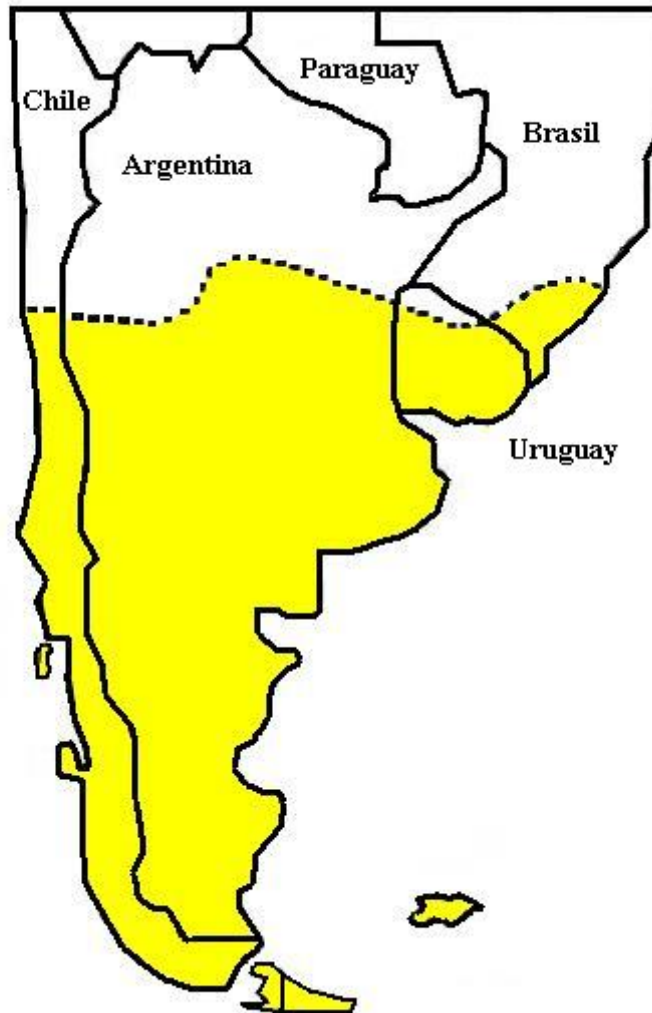


FIGURA 1: Distribución del Cisne de cuello negro en Sudamérica marcado en color amarillo (Modificado de Schlatter y col., 2002).

3.2.3 Aspectos biológicos y legales:

El Cisne de cuello negro es una especie exclusivamente herbívora y oportunista, constituyendo su dieta principalmente en *Egeria densa* (luchecillo) en el Río Cruces y en *Ulva lactuca* (luche) en sectores marinos (Schlatter y col., 1991a; Corti, 1996).

Es una especie denominada tradicionalmente como migratoria (Blake, 1977; Salazar, 1988) o parcialmente migratoria, documentándose movimientos locales solamente (Schlatter y col., 2002). Por tal motivo, se ha propuesto que el *Cygnus melanocoryphus* es una especie nomádica, que varía su número de acuerdo a patrones estacionales de la región en que habita como el caso de los fenómenos climáticos de El Niño y La Niña, que provocan movimientos erráticos y oportunistas de cisnes y otras aves hacia lugares en que comúnmente no se

encuentran o hacia humedales más estables, lagunas interiores u oligotróficos, ríos y estuarios tanto de Chile como de Argentina (Schlatter y col., 2002; Vilina y col., 2002).

El primer censo nacional de esta especie data del periodo entre 1971 y 1972, obteniendo como resultado una cantidad de 11.320 individuos, de los cuales más del 95 % se concentraban en la XII región y sólo un 4 % se encontraban entre Santiago y Chiloé Insular (Drouilly, 1976). En dicho estudio se censaron 54 cisnes en el Santuario del Río Cruces. Para el periodo entre 1982 y 1987, se estimó una abundancia mínima de 627 ejemplares y una máxima de 1.869 ejemplares en el Santuario “Carlos Anwandter”, siendo más abundante durante los meses de marzo y agosto (otoño – invierno) (Salazar, 1988). Entre 1985 y 1999 se obtuvo una cifra mínima en 1985 de 640 individuos y en 1997 una cifra máxima de 14.533 individuos (Schlatter y col. 2002). Para el año 1997 y 1998 se censaron 2.356 y 3.279 individuos respectivamente (CONAF, 2000). Dichos resultados concluyen en que el número de cisnes en el Santuario es altamente variable, pero tendiendo a un aumento. Se estima una población total para el sur del cono sudamericano de unos 100.000 individuos (Schlatter y col., 1991a; Vilina y col., 2002).

El Cisne de cuello negro es un ave esencialmente monógama (Birkhead y Perrins, 1986), estableciendo fuertes lazos de unión en la pareja lo que concluye en el éxito reproductivo. En condiciones de cautiverio, comienza su período reproductivo a los dos años de edad (Scott, 1972). Concentra su actividad reproductiva entre los meses de agosto y abril, desde que comienzan a aparearse hasta la última postura de huevos que, por lo general, son de 3 a 4 huevos en nidos semi - flotantes de gran tamaño ubicados en pajonales espesos al borde de las lagunas (Goodall y col., 1951). Luego de 36 días de incubación las crías, de color blanco, son de características nidífugas permaneciendo en el nido sólo 2 días. Después de dos meses cambian de color su plumaje, primero a café grisáceo y luego a blanco y permanecen junto a sus padres hasta aproximadamente los cinco meses (Birkhead y Perrins, 1986; Salazar, 1988; Schlatter, 1998).

Legalmente, *Cygnus melanocoryphus* se encuentra en estado de conservación vulnerable en todo el país (Rottman y López-Callejas, 1992; Glade, 1993; SAG, 1998; Schlatter, 1998; CONAF, 2000). Se entiende por especie vulnerable a aquella especie de fauna silvestre, que por objeto de una caza o captura intensiva, por tener una existencia asociada a determinados hábitat naturales que está siendo objeto de un progresivo proceso de destrucción, alteración o contaminación, están experimentando un constante retroceso numérico que puede conducirla al peligro de extinción (Glade, 1993; SAG, 1998).

Aunque es una de las especies más abundantes del Santuario de la Naturaleza, la información biológica y fisiológica acerca del Cisne de cuello negro es insuficiente, no pudiendo comparar valores diferenciales de referencia entre individuos silvestres y en cautiverio, y aún más importante, entre animales enfermos y sanos. Debido a que los signos clínicos en aves son siempre menos específicos y evidentes que otras clases animales, establecer un diagnóstico confiable requiere ser apoyado con métodos de laboratorio (Polo y col., 1998; Scope y col., 2000).

3.3. HEMATOLOGÍA AVIAR:

La hematología, definida como la ciencia que estudia las características y variaciones de los componentes figurados de la sangre (Wittwer y Böhmwald, 1983) es frecuentemente utilizada como indicadora de condición nutricional y de salud en animales (Dawson y Bortolotti, 1997). La sangre cumple diversas funciones como la absorción y transporte de nutrientes desde el tracto digestivo a los tejidos, el transporte de gases sanguíneos desde y hacia los tejidos, la eliminación de productos de desechos metabólicos, el transporte de hormonas de glándulas endocrinas, la regulación del contenido tisular de agua y la mantención y regulación de la temperatura corporal (Sturkie, 1976). Está compuesta por una porción líquida, el plasma, y por elementos figurados, los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas, conformando entre el 5 y el 13 % del peso vivo del animal dependiendo de la especie, edad, sexo y estado fisiológico (Sturkie, 1976; Jones y Johansen, 1972). Debido a que la sangre es un tejido que participa en forma directa e indirecta en casi todos los procesos bioquímicos del cuerpo, sus alteraciones ayudan a detectar lesiones o mecanismos alterados existentes en el organismo (Wittwer y Böhmwald, 1983) siendo muy utilizada para el diagnóstico y monitoreo de enfermedades en aves (Zinkl, 1986; Polo y col., 1998). Para interpretar los resultados de laboratorio, el clínico debe compararlos con valores referenciales apropiados, por lo que debe disponer de valores de especies en particular, los cuales, desafortunadamente, no siempre están disponibles (Black, 1981; Scope y col., 2000).

Existen numerosos estudios que determinan variables hematológicas referidas a aves de producción principalmente (Lucas y Jamroz, 1961; Sturkie, 1976; Zinkl, 1986; Awotowi y Boohene, 1992; Bounous y Stedman, 2000). Se han realizado estudios en algunos Anseriformes en cautiverio como *Anas platyrhynchos* (Hatipoglu y Bagci, 1996; Tadjalli y col., 1996; Oyewale y col., 1998; Campbell, 2000b; Carpenter y col., 2001), en *Anas superciliosa*, *Chenonetta jubata* y *Branta canadensis* (Campbell, 2000b), en *Anser albifrons*, *A. domesticus* y *Branta sandvicensis* (Gee y col., 1981) y en *Cygnus buccinator* (Olsen y col., 2002). Existen publicaciones en diversas aves en cautiverio como en Psittaciformes (Hawkey y col., 1982; Leonard, 1982; Roskopf y col., 1982; Stoskopf y col., 1983b; Lane, 1991; Polo y col. 1998; Campbell, 2000a; Scope y col., 2000; Carpenter y col., 2001), en Passeriformes (Lane, 1991; Carpenter y col., 2001), en Columbiformes (Scope y col., 2002), en Galliformes (Balasch y col., 1973; Lavín y col., 1992), en Gruiformes (Hawkey y col., 1983), en Phoenicopteriformes (Hawkey y col., 1984a; Hawkey y col., 1984b; Peinado y col., 1992; Merrit y col., 1996), en Charadriiformes (Averbeck, 1992), en Sphenisciformes (Hawkey y col., 1985; Villouta y col., 1997) y en Falconiformes (Balasch y col., 1976; Gee y col., 1981; Dell'omo y Cavallina, 1996; Samour y col. 1996; Carpenter y col., 2001). Valores hematológicos para aves silvestres aparecen esporádicamente en la literatura y no se dispone de una completa lista de parámetros de especies no domésticas (Gee y col., 1981). Existen pocas publicaciones de evaluaciones hematológicas en ejemplares silvestres del cono sur como en pingüino de penacho amarillo (*Eudyptes chrysocomes*) (Karesh y col., 1995), en petrel gigante antártico (*Macronectes giganteus*) (Uhart y col., 2003) y en albatros de las Galápagos (*Phoebastria irrorata*) (Padilla y col., 2001).

Las aves han desarrollado un sistema cardiovascular altamente eficiente, para satisfacer las demandas que su medio le exige, entregar una cantidad adecuada de oxígeno y remover eficientemente los productos metabólicos (Smith y col., 2000). El volumen sanguíneo en aves depende de la especie, variando desde 5 ml/ 100 g de peso a 16.3 ml/ 100 g de peso (Black, 1981; Campbell, 1997). El valor hematológico de un individuo, al igual que en mamíferos, son determinados por factores genéticos, fisiológicos y ambientales, tales como la especie, la edad, el sexo, el estado nutricional, las variaciones estacionales, la altura y la muda (Moye y col., 1969; Humphreys, 1978; Gee y col., 1981; Freeman, 1984; Villouta y col., 1997; Campbell, 2000b). En anseriformes, los parámetros hematológicos varían normalmente a través del año bajo influencia hormonal y ambiental, como migraciones, época reproductiva, muda y madurez pero no se ha descrito diferencias entre individuos de distinto sexo (Humphreys, 1978; Campbell, 2000). El método de captura y el tiempo transcurrido hasta la toma de muestra es de suma importancia para evitar alteraciones en los parámetros producto del estrés de la manipulación. Valores hematológicos normales analizados en diferentes laboratorios pueden variar significativamente, por la toma de muestras y la técnica analítica utilizada (Campbell, 2000a).

Los puntos de obtención de sangre en aves son la vena yugular derecha, la vena ulnar superficial y la vena metatarsal media, siendo ésta última vía común en aves acuáticas de tamaño mediano a grande ya que las patas son de más fácil sujeción que las alas (Black, 1981; Leonard, 1982; Korbelt, 1990; Campbell, 1997; Bounous y Stedman, 2000).

Los valores obtenidos para cada variable, en una determinada especie y en condiciones ambientales y de laboratorio similares se conocen como valores normales. Pero en la actualidad se ha propuesto el término de límites de referencia, ya que sirven para comparar más que para expresar normalidad (Wittwer y Böhmwald, 1983). Estos límites son los mejores para definir los límites superiores e inferiores para el 95 % de los animales de una población sana (Lumsden, 2000).

Para establecer un rango referencial se deben obtener muestras representativas de una población aparentemente sana o clínicamente normal (Lumsden, 2000; Harr, 2001). Se considera una población clínicamente normal a un grupo de individuos que pertenecen a un lugar determinado y que encuentran sin una anormalidad obvia o macro, sin embargo es posible que tengan alteraciones bioquímicas subclínicas no detectables (Bermes y col., 1976). Generalmente, y por las dificultades que implica trabajar con animales silvestres se requieren no menos de treinta e idealmente cuarenta individuos (Farver, 1997; Harr, 2001).

3.3.1 Eritrocitos

La serie eritrocítica consiste en eritroblasto, eritrocito policromático temprano, eritrocito policromático medio, eritrocito policromático tardío, reticulocito y eritrocito maduro (Lucas y Jamroz, 1961; Sturkie, 1976).

Los eritrocitos maduros, a diferencia de los mamíferos, son de forma ovalada, con un núcleo central de un tamaño que varía entre 14 a 15.7 μm de largo y 7.5 a 7.9 μm de ancho lo

que disminuye la capacidad de deformación de la célula (Sturkie, 1976; Zinzl, 1986; Campbell, 1997; Smith y col., 2000). El citoplasma se tiñe homogéneamente del color del la tinción que se utilice (Lane, 1991). El núcleo es de un gran tamaño, ocupando mayor espacio dentro de la célula (Jones y Johansen, 1972), lo que contribuye a una concentración de hemoglobina menor (Zinkl, 1986) y, por lo tanto, una mayor concentración citoplasmática libre y mayor viscosidad interna que en lo mamíferos (Smith y col., 2000). Los eritrocitos inmaduros son levemente más largos que los maduros y poseen un citoplasma con gránulos y un pequeño núcleo condensado (Zinkl, 1986; Lane, 1991), se desarrollan más rápidamente, encontrando un bajo porcentaje de células inmaduras al evaluar un recuento de eritrocitos (Lucas y Jamroz, 1961; Sturkie, 1976; Lane, 1991).

La eritropoiesis ocurre, durante el estado embrionario, principalmente en el saco vitelino y secundariamente en la médula ósea. A partir de los diez días a las dos semanas de edad, la eritropoiesis ocurre sólo en la médula ósea (Hodges, 1977; Zinkl, 1986). El estímulo eritropoyético está bajo control humoral, influidos por la hipoxia, la edad, el sexo y algunas hormonas, como estrógenos y andrógenos que tienden a disminuir e incrementar el número de eritrocitos respectivamente. Todos estos factores producen eritropoyetina, una glicoproteína producida en los riñones que actúa directamente sobre la médula ósea, estimulando la producción de eritrocitos (Sturkie, 1976).

3.3.1.1 Hemoglobina: La hemoglobina es un compuesto orgánico que contiene porfirina, hematina y una proteína globular llamada globina. Cada molécula posee cuatro unidades de hematina ligadas a cuatro globinas y a una molécula de hierro lo que da el color a los eritrocitos y que transporta cuatro moléculas de oxígeno. Su función es absorber oxígeno del aire de los pulmones y transportarlo a los tejidos. La concentración de hemoglobina en aves se describe como falsamente elevada en comparación con la de los mamíferos, debido al núcleo del eritrocito que aumenta la lectura de densidad óptica de la célula. Esto se soluciona con la centrifugación de la muestra sanguínea para la remoción del núcleo (Zinkl, 1986).

3.3.1.2 Volumen Globular Aglomerado o Hematocrito: Corresponde al porcentaje del volumen total de la sangre ocupado por los eritrocitos. Esto representa la capacidad de transporte de oxígeno que posee la sangre y constituye una respuesta adaptativa a las necesidades de oxígeno de un individuo normal (Dawson y Bortolotti, 1997; García - Baquero y col., 2002).

3.3.1.3 Índices eritrocíticos de Wintrobe: Los índices corresponden a valores obtenidos matemáticamente utilizando los resultados del recuento de eritrocitos, la hemoglobina y el hematocrito. Los índices más utilizados son el volumen corpuscular medio, que indica el volumen o tamaño promedio de los eritrocitos clasificándolos en microcitos, normocitos y macrocitos, y la concentración de hemoglobina corpuscular media, la cual expresa el volumen o cantidad de hemoglobina dentro de la masa de eritrocitos, los que se clasifican en hipocrómicos, normocrómicos o hiperocrómicos (Wittwer y Böhmwald, 1983).

3.3.2 Leucocitos

Los leucocitos presentes en aves se representan por las células mononucleares, linfocitos y monocitos, que se encuentran en la sangre periférica de las aves (Campbell, 1997), y por los granulocitos, heterófilos, eosinófilos y basófilos. Su identificación causa confusión por la falta de referencias y estudios previos, y más aún en especies exóticas y silvestres (Lane, 1991), en especial la diferenciación entre heterófilos y eosinófilos (Zinkl, 1986).

3.3.2.1 Células Mononucleares: Corresponden a los linfocitos y a los monocitos. Al carecer de gránulos, éstas células se dificultan para su diferenciación, especialmente si la tinción utilizada no entrega una buena claridad y definición de sus núcleos (Lane, 1991).

3.3.2.1.1 Linfocitos: Junto con los heterófilos, son los leucocitos más comunes en la sangre aviar (Lane, 1991). La serie linfocitaria consiste en linfoblastos, linfocitos inmaduros y linfocitos maduros pequeños y grandes (Lucas y Jamroz, 1961). Se dividen en linfocitos pequeños, más comunes y con una relación núcleo: citoplasma mayor, y los grandes linfocitos con una relación núcleo: citoplasma menor. Ambos poseen núcleo redondeado central con cromatina densa y un citoplasma homogéneo (Lane, 1991; Campbell, 1997). Ocasionalmente se pueden confundir con los trombocitos o con los monocitos (Lane, 1991; Campbell, 1997). Una reacción linfocitaria leve a moderada se relaciona con infecciones bacterianas, mientras que una moderada a severa se asocia con afecciones virales y neoplasias, tales como linfomas o linfosarcomas (Lane, 1991). La linfocitopoyesis ocurre principalmente en las estructuras linfoides centrales, Bolsa de Fabricio y Timo, y las periféricas, bazo, tonsilas cecales y otros tejidos linfoides intestinales. En forma secundaria ocurre en nódulos linfoides dentro de la médula ósea (Hodges, 1977).

3.3.2.1.2 Monocitos: Son los leucocitos de mayor tamaño y los más escasos, poseen un núcleo de forma irregular o ameboidea y una cromatina reticular que lo diferencia de los linfocitos (Hodges, 1977; Zinkl, 1986; Lane, 1991; Campbell, 1997). Contienen una mayor cantidad de citoplasma que los linfocitos, de una tinción más oscura, con gránulos eosinofílicos y puede estar vacuolado (Zinkl, 1986; Campbell, 1997). Se postula que los monocitos son formados en órganos linfoides, en las mismas partes que los linfocitos, y que estarían relacionados en su origen con los heterófilos (Lucas y Jamroz, 1961; Zinkl, 1986). La línea monocitaria consiste en un monoblasto, monocito inmaduro temprano, monocito inmaduro tardío y monocito maduro (Campbell, 1997).

3.3.2.2 Granulocitos: Los granulocitos se caracterizan por poseer gránulos en el citoplasma y un núcleo lobulado (Jones y Johansen, 1972). Corresponden a tres tipos de células: los heterófilos, los eosinófilos y los basófilos. La granulocitopoyesis ocurre en el espacio extravascular de la médula ósea (Hodges, 1977; Zinkl, 1986). La línea granulocítica consiste en granuloblastos o hemocitoblastos, parecidos a los eritroblastos. Luego pasa por numerosas etapas de transformación, metagranuloblastos, promielocitos, mesomielocito, metamielocito y finaliza en un granulocito maduro (Lucas y Jamroz, 1961).

3.3.2.2.1 Heterófilos: Al igual que en mamíferos, conocidos como neutrófilos, son los granulocitos más comunes y poseen una función fagocítica (Lane, 1991). Son circulares con

un núcleo bilobulado y gránulos eosinofílicos citoplasmáticos con cuerpos refráctiles (Jones y Johansen, 1972; Lane, 1991; Montani, 1988; Campbell, 1997). El número de heterófilos presenta pequeños cambios en las diferentes especies, siendo indicativos de enfermedad en algunas y en otras de normalidad (Lane, 1991). La presencia de heterófilos maduros con granulación tóxica indican procesos tóxicos, similar a los neutrófilos en mamíferos (Campbell, 1997).

3.3.2.2.2 Eosinófilos: Son circulares y contienen gránulos eosinofílicos circulares y ovalados citoplasmáticos sin cuerpos refráctiles (Campbell, 1997). El núcleo se tiñe de forma más intensa que los demás leucocitos (Lane, 1991; Campbell, 1997). Los eosinófilos se asocian con reacciones alérgicas y a infecciones parasitarias (Lane, 1991). Raramente se presenta una eosinofilia (Lane, 1991).

3.3.2.2.3 Basófilos: Los basófilos son fácilmente reconocibles por ser células de menor tamaño con gránulos basofílicos y un núcleo intensamente teñido (Lane, 1991) no lobulado, redondo u ovalado (Campbell, 1997). La presencia de basófilos se asocia a afecciones crónicas (Lane, 1991).

3.3.3 Trombocitos:

Los trombocitos corresponden a células nucleadas y de tamaño similar a los leucocitos (Campbell, 1997), ovalados con dos a cuatro gránulos citoplasmáticos. Cumplen una función de coagulación similar a las plaquetas de los mamíferos, aunque se han estudiado otras funciones como la de fagocitosis de cuerpos extraños y la de reemplazo de eritrocitos en casos de anemias agudas. Las aves difieren con los mamíferos en el proceso de la coagulación, especialmente en el sistema intrínseco, el cual carece de los factores XI y XII de coagulación (Doerr y Hamilton, 1982; Zinkl, 1986). Generalmente se encuentran, en un frotis, agrupados de dos o más células (Lane, 1991; Campbell, 1997; Bertram, 1998).

3.3.4 Hemoparásitos:

Otro aspecto de interés en el estudio hematológico se refiere a determinar la presencia de agentes patógenos que afectan las células sanguíneas, como son los hemoparásitos, siendo más comunes las especies del género *Haemoproteus*, *Trypanosoma*, *Plasmodium* y *Leucocytozoon* (Bennet y col., 1992; Graczyk y col., 1994; Ots y Horak, 1998), éste último causante de altas mortalidades en aves acuáticas jóvenes en determinadas zonas (Campbell, 2000b). Un estudio realizado en Estados Unidos con 75 cisnes trompeteros, arrojó que un 35% presentaba *Haemoproteus mettiomis*, dos muestras positivas a *Plasmodium circumflexum* y una positiva a *Leucocytozoon simondi* (Bennet y col., 1981).

Para establecer el número de eritrocitos y de leucocitos en una muestra de sangre se emplea el método de recuento de Natt y Herrick (Stoskopf y col., 1983b; Pierson, 2000). Para determinar la distribución de los diferentes tipos de leucocitos se emplea la tinción de Romanowsky como Wright's, Giemsa o la combinación de ambos (Stoskopf y col., 1983b;

Campbell, 1997). Esta información provee al clínico una posible alteración o falta de respuesta de la médula ósea (Lane, 1991; Campbell, 1997).

3.4 HIPÓTESIS.

Por lo anteriormente expuesto, la importancia del Cisne de cuello negro como especie bandera del Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter” y primer sitio Ramsar de Chile en donde se ubica la colonia reproductiva de mayor importancia de Sudamérica, este estudio de carácter descriptivo plantea las siguientes hipótesis:

H₁: La captura, obtención de muestras sanguíneas y estudio hematológico es realizable en Cisnes de cuello negro.

H₂: Los valores hematológicos entre machos y hembras, así como entre adultos e inmaduros son significativamente diferentes.

H₃: Los cisnes de cuello negro presentan parásitos sanguíneos.

Para aceptar o rechazar las hipótesis anteriormente señaladas se realizó el estudio con los siguientes objetivos para determinar valores hematológicos de referencia para el *Cygnus melanocoryphus* en estado silvestre:

1. Capturar cisnes de cuello negro en estado silvestre y obtener una muestra sanguínea para su posterior análisis.
2. Establecer los valores del número de eritrocitos, la concentración de hemoglobina, el volumen corpuscular medio, la concentración de hemoglobina corpuscular media y el número de leucocitos totales y diferenciales
3. Describir eventuales diferencias entre individuos machos y hembras, adultos e inmaduros.
4. Determinar la presencia eventual de hemoparásitos en frotis sanguíneos.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Material biológico:

Se capturaron 50 *Cygnus melanocoryphus*, clínicamente sanos, en el sector de “San Ramón” del Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”, Río Cruces, Valdivia (Figura 2), de las cuales se obtuvo 46 muestras de sangre para su posterior análisis. Por acuerdo entre las entidades gubernamentales y los investigadores, la problemática que implica trabajar con animales en estado silvestre, el escaso tiempo y recursos disponibles para la realización de la investigación se determinó dicha cifra de animales. Del total de individuos, 17 fueron inmaduros menores de dos años que pesaron 5.15 kg y midieron 105 cm como promedio (Anexo 5), 16 fueron hembras adultas que pesaron 5.76 kg y midieron 109.88 cm como promedio (Anexo 6) y 13 fueron machos adultos que pesaron 5.8 kg y midieron 113.92 cm como promedio (Anexo 7) (Gráfico 1).

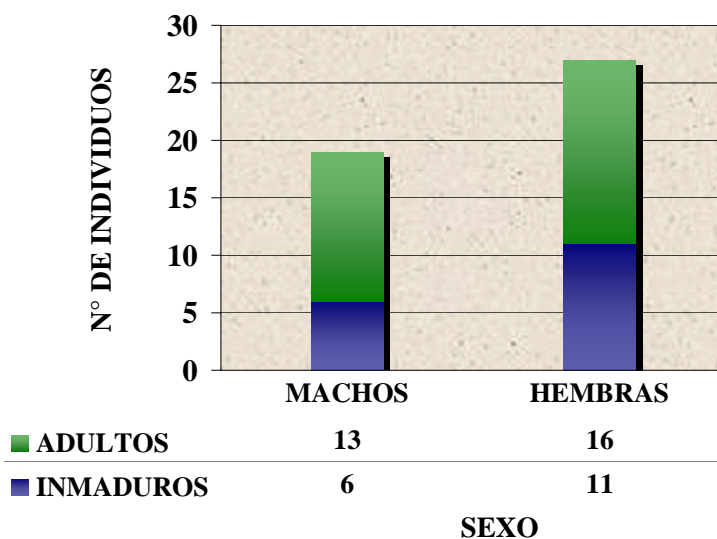


GRÁFICO 1: Relación de sexo y edad de los ejemplares de Cisne de cuello negro capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

Las capturas se realizaron los días 7 y 21 de junio y 3 de septiembre del 2003, entre las 10:00 y 14:00 horas. Para la captura de los cisnes se obtuvo el permiso N° 1-41/2003 del Departamento de Protección de Recursos Naturales Renovables, Subdepartamento de Vida Silvestre del Servicio Agrícola y Ganadero, SAG, Santiago (Anexo 3), y para la investigación en el Santuario se obtuvo la autorización N° 108 de la Unidad de Patrimonio Silvestre de la Corporación Nacional Forestal, CONAF, Región de Los Lagos (Anexos 1 y 2).

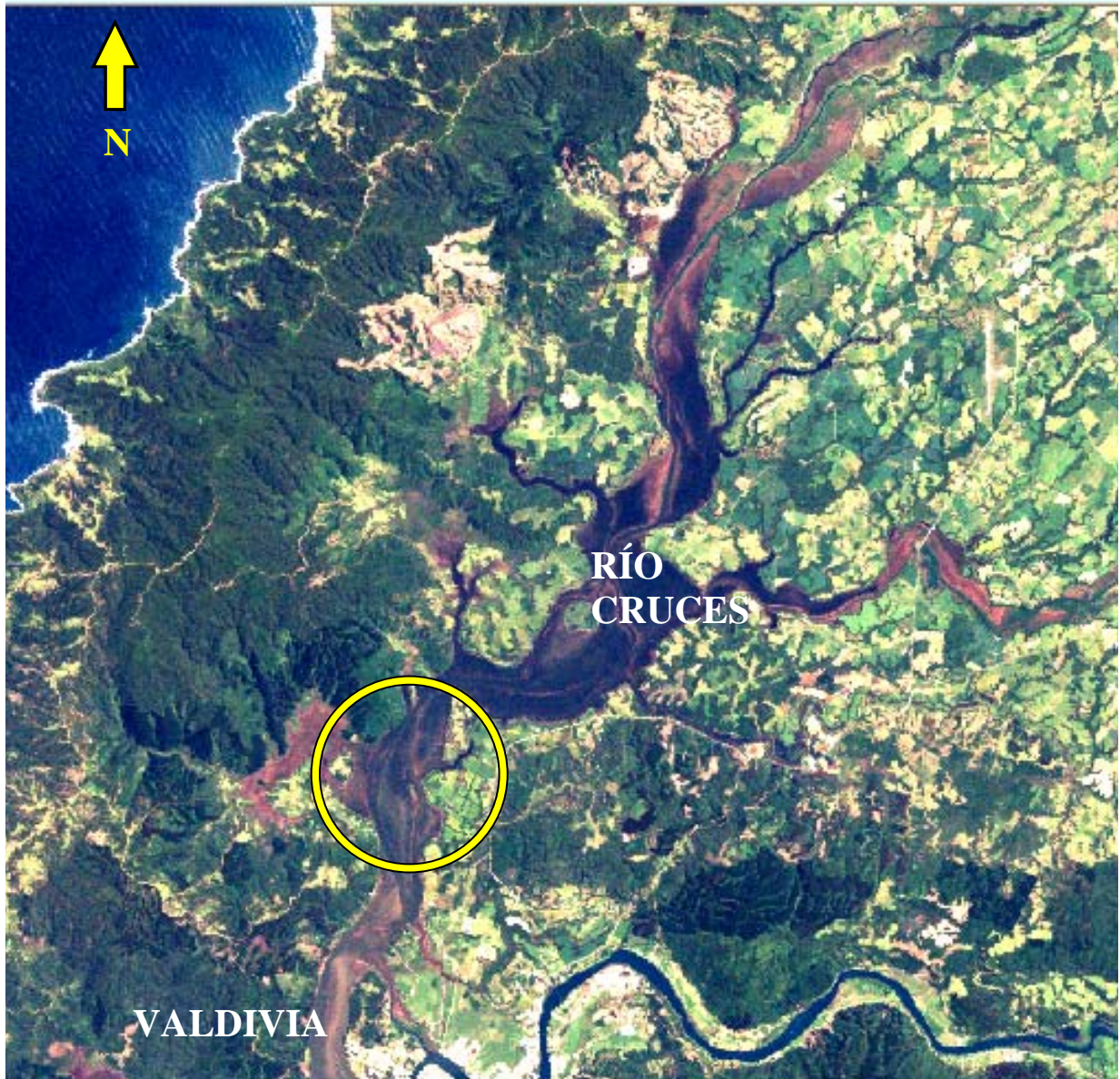


FOTO 1: Imagen Satelital del Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica “Carlos Anwandter”. El Sector San Ramón, área de captura de cisnes en círculo amarillo. Escala 1:180.000; LandSat TM; Bandas 3, 2, 1; Resolución espacial de 30 metros; 2002 (Gentileza de Laboratorio SIG, Instituto de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, UACH).

4.1.2 Materiales y método de captura, recolección de muestras y toma de datos:

Se utilizó para la captura un bote a motor perteneciente a CONAF y chinguillos adaptados, consistentes en una vara de dos metros con una malla en un extremo. Una vez en el bote, se les cubrió con un saco para la disminución del estrés y se dejaron en reposo por aproximadamente veinte a treinta minutos en corrales en tierra para estabilizar las constantes fisiológicas y en donde se encontraban los materiales para la toma de muestras. Para la obtención de sangre se utilizó bolsas de goma con agua caliente (guateros) para provocar vasodilatación de la vena metatarsal media (Figura 3) y la venopunción se realizó con jeringas de 3 y 5 ml y agujas de 21 G para cada cisne. Alcohol y Povidona yodada se utilizaron para una mejor asepsia en el sitio de punción. Se extrajo 1.5 ml de sangre la que se depositó en tubos Vacutainer® con anticoagulante EDTA (Ácido etilendiamino - tetracético) que se almacenaron en una nevera con unidades refrigerantes para su posterior análisis en laboratorio.



FIGURA 3: Ubicación de la vena metatarsal media en aves marcado en color rojo (Schwarze, 1970).

Se procedió a la obtención de datos de peso (en kg), sexo (macho o hembra), edad (adulto o inmaduro), longitud total desde punta de pico hasta punta de la cola (en cm) (Anexo 4). Para la toma de estos datos se utilizó una pesa, un huincha de medir, una ficha de anotaciones. La diferenciación etaria se realizó por características corporales (Fotos 2 y 3) y la diferenciación sexual se realizó por eversión de la cloaca e identificación de genitales. Previo a la liberación de cada ave, se marcó en el dorso con una mezcla de ácido pícrico para evitar la recaptura.



Individuo juvenil



Individuo adulto

FOTO 2: Diferenciación etaria según características de las carúnculas nasales.



FOTO 3: Detalle de un ala de Cisne de cuello negro juvenil, con las puntas de las plumas remiges primarias negras.

Las muestras obtenidas se trasladaron al Laboratorio de Patología Clínica del Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, dentro de 12 horas después de obtenidas.

4.2 MÉTODO

4.2.1 Análisis de laboratorio:

4.2.1.1 Recuento de eritrocitos (RGR): Se determinó manualmente el número de eritrocitos $\times 10^6/\mu\text{l}$ por recuento en Cámara de Neubauer usando el método de Natt y Herrick (Anexo 8), el cual es un método directo para el recuento de eritrocitos y leucocitos que consiste en llenar una pipeta Thoma para eritrocitos de sangre con anticoagulante EDTA hasta la marca 0.5 y luego con diluyente 2B Metil Violeta hasta la marca 101 (Leonard, 1982; Stoskopf y col., 1983a; Campbell, 1997; Pierson, 2000). Los eritrocitos se tiñen más claros que los leucocitos y se realiza el recuento en cinco cuadros de 0.2 mm^3 (Figura 4).

4.2.1.2 Hemoglobina (Hb): Se determinó la concentración de hemoglobina en g/dl mediante el método de la cianometahemoglobina, previa centrifugación a 1.000 rpm para remover el núcleo y detritus celulares. La lectura se efectuó a 536 nm en el fotómetro Hitachi 4020.

4.2.1.3 Volumen Globular Aglomerado (VGA): Se determinó por centrifugación en tubos de microhematocrito por 5 minutos a 12.000 rpm.

4.2.1.5 Índices eritrocíticos de Wintrobe: Se calcularon el Volumen Corpuscular Medio (VCM) en fentólitro (fl) y la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHbCM) en g/dl mediante las siguientes fórmulas, empleando los resultados del recuento de eritrocitos, Hb y VGA:

$$\text{VCM (fl)} = \frac{\text{VGA} \times 1000}{\text{N}^\circ \text{ de eritrocitos}} \qquad \text{CHbCM (g/dl)} = \text{Hb} / \text{VGA}$$

4.2.1.6 Recuento de leucocitos totales: Se determinó manualmente el número de leucocitos $\times 10^3/\mu\text{l}$ por conteo en Cámara de Neubauer usando la dilución 1:200 de Natt y Herrick para el recuento de glóbulos rojos y en la cámara se contó los leucocitos, que se tiñen más oscuros que los eritrocitos, en los nueve cuadrados de 1 mm^3 cada uno (Stoskopf y col., 1983a; Campbell, 1997) (Figura 4). Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{N}^\circ \text{ de leucocitos totales} / \mu\text{l} = \text{N}^\circ \text{ leucocitos en 9 cuadrados} \times 220$$

4.2.1.7 Fórmula leucocitaria diferencial relativa: Se determinó mediante diferenciación de 100 leucocitos en frotis preparados en cubreobjetos de 22 x 22 mm teñidos con tinción de Wright y observados bajo microscopio a 800X para la diferenciación de heterófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos y linfocitos.

4.2.1.8 Fórmula leucocitaria diferencial absoluta: Se realizó por cálculos de regla de tres utilizando los valores del recuento de leucocitos totales y de la fórmula leucocitaria diferencial relativa.

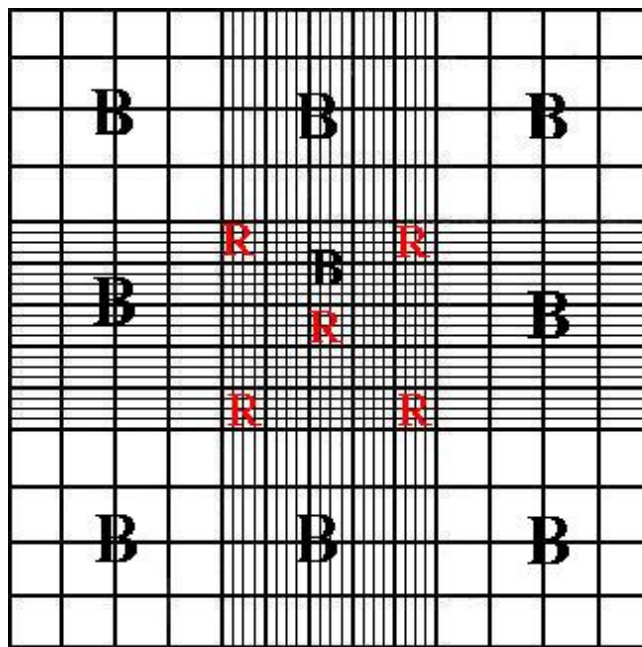


FIGURA 4: Esquema de una cámara de Neubauer para el recuento de leucocitos (B) y eritrocitos (R) en aves.

4.2.1.9 Hemoparásitos: La búsqueda de *Haemoproteus*, *Trypanosoma*, *Plasmodium* y *Leucocytozoon* se realizaron en frotis preparados en cubreobjetos de 22 x 22 mm teñidos con tinción de Wright y observados bajo microscopio a 800X utilizados para el recuento leucocitario diferencial.

4.2.2 Análisis de datos:

Se realizó un análisis estadístico descriptivo en una planilla Excel 2000 del programa Microsoft Office de los valores obtenidos para cada variable, calculando la media aritmética, desviación estándar, mínima, máxima, mediana y rangos para los grupos de cisnes que se estudiaron.

Se utilizó el programa *Statistix 8.0* para Windows, con un nivel de significancia de $p = 0,05$. Para comprobar la normalidad de los datos se realizó la prueba de Skew y Kurtosis ($-2 < p < 2$). Se realizó la prueba de “t” para eliminar el efecto peso (peso-edad y peso-sexo) sobre las variables. Se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis de una vía, para los las variables sin una distribución normal. A las variables con distribución normal se les realizó un

ANDEVA y Covarianza de 2 vías y comparación múltiple, en donde prima la interacción de las variables y no el error, para analizar la influencia del sexo, la edad y la interacción de ambos. Se les realizó una prueba de Tukey a las variables en que se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$). Para homogeneizar todos los resultados de varianza se realizó la prueba de Levene's, teniendo de efecto a sexo - edad y las variables.

5.- RESULTADOS

Los resultados se presentan en forma separada, los primeros de la serie roja y luego de la serie blanca. Los ejemplares capturados se separaron en Juveniles (machos y hembras) al no encontrar diferencias significativas entre sexos, Machos adultos y Hembras adultas.

5.1 RESULTADOS DE LA SERIE ROJA.

5.1.1 Resultados de la línea roja en ejemplares inmaduros.

Se obtuvieron 17 muestras sanguíneas de ejemplares inmaduros, de los cuales 7 correspondieron a ejemplares machos y 9 a ejemplares hembras los cuales no presentaron diferencias entre ellos ($p > 0.05$). Los resultados se expresan la tabla 2 (Anexo 9). El índice VCM no presentó una distribución normal. La media fue siempre inferior a la mediana para todas las variables pero siendo siempre valores muy cercanos.

TABLA 2: Valores hematológicos mínimos, máximos, mediana, media y desviación estándar (DE) de la serie roja de 17 *Cygnus melanocoryphus* inmaduros del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	RGR ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	VGA (%)	Hb (g/dl)	VCM (fl)	CHbCM (g/dl)
N	17	17	17	17	17
Mínima	1,48	35	8,2	169,4	23,4
Máxima	2,58	49	15,1	310,8	33,7
Mediana	2,02	43	12,6	212,9	29,3
Media	2,00	41,9	12,1	213,3	28,7
DE	0,31	4,0	2,2	35,3	3,5
Prueba de Normalidad	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p < 0.05$	$p > 0.05$

RGR : Recuento de eritrocitos VGA : Hematocrito Hb : Hemoglobina
VCM : Volumen Corpuscular Medio
CHbCM : Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media

5.1.2 Resultados de la serie roja en ejemplares machos adultos.

Los valores hematológicos para los 13 machos adultos se muestran en la tabla 3 (Anexo 10). Se observa que los valores de la media y la mediana son bastante cercanos. Los valores de la DE fueron similares al de los inmaduros; sin embargo, para Hb y para los índices eritrocíticos fueron menores aún teniendo un tamaño muestral inferior. El recuento de eritrocitos y de VGA fue menor que en individuos inmaduros, mientras que los valores de Hb y de los índices resultaron mayores, es decir, los eritrocitos son de mayor tamaño y con mayor cantidad de hemoglobina.

TABLA 3: Valores hematológicos mínimos, máximos, mediana, media y desviación estándar (DE) de la serie roja de 13 *Cygnus melanocoryphus* machos adultos del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	RGR ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	VGA (%)	Hb (g/dl)	VCM (fl)	CHbCM (g/dl)
N	13	13	13	13	13
Mínima	1,45	35,0	9,3	134,5	24,5
Máxima	2,90	55,0	17,0	264,9	32,7
Mediana	1,84	39,0	12,4	228,9	31,0
Media	1,86	41,1	12,6	225,0	30,6
DE	0,37	5,3	1,9	34,8	2,1
Prueba de Normalidad	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

RGR : Recuento de eritrocitos VGA : Hematocrito Hb : Hemoglobina
VCM : Volumen Corpuscular Medio
CHbCM : Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media

5.1.3 Resultados de la serie roja en ejemplares hembras adultas.

La tabla 4 muestra la distribución de los valores obtenidos en las 16 hembras adultas (Anexo 11). La media fue levemente mayor a la mediana para todas las variables estudiadas, siguiendo una distribución normal en todos los parámetros y con una DE más baja que los inmaduros y los machos adultos en RGR y Hb. Presentaron valores más bajos de eritrocitos que los machos adultos y que los inmaduros, mientras que los valores de VGA, Hb y de los índices fueron superiores. Esto nos revela que los eritrocitos son de mayor tamaño, por lo tanto hay menos células por superficie, y de mayor cromaticidad, es decir con mayor cantidad de Hb dentro de la masa eritrocítica.

TABLA 4: Valores hematológicos mínimos, máximos, mediana, media y desviación estándar (DE) de la serie roja de 16 *Cygnus melanocoryphus* hembras adultas del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	RGR (x10 ³ / μl)	VGA (%)	Hb (g/dl)	VCM (fl)	CHbCM (g/dl)
N	16	16	16	16	16
Mínima	1,5	31,0	10,6	200,9	27,1
Máxima	2,2	54,0	17,7	321,4	34,7
Mediana	1,7	43,0	13,3	236,5	30,7
Media	1,8	43,4	13,5	245,6	31,1
DE	0,3	4,6	1,8	36,7	2,2
Prueba de Normalidad	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05

RGR : Recuento de eritrocitos VGA : Hematocrito Hb : Hemoglobina
VCM : Volumen Corpuscular Medio
CHbCM : Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media

5.1.4 Resultados de la serie roja del total de ejemplares de Cisnes de cuello negro.

En la tabla 5 se presenta la media, la desviación estándar y los límites de referencia inferiores y superiores utilizando el método de promedios del recuento de eritrocitos totales, el hematocrito, la hemoglobina y los índices eritrocíticos obtenidos de las 46 muestras ya que todos los valores siguieron una distribución normal.

TABLA 5: Media, desviación estándar y límites de referencia para variables hematológicas de la serie roja de 46 *Cygnus melanocoryphus* del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	Unidades	n	Media	DE	Límites de referencia	
RGR	$\times 10^6/\mu\text{l}$	46	1,89	0,32	1,24	2,54
VGA	%	46	42,20	4,63	32,93	51,46
Hb	g/dl	46	12,72	2,03	8,67	16,77
VCM	fl	46	236,35	36,73	162,88	309,82
CHbCM	g/dl	46	30,07	2,88	24,30	35,84

Prueba de Normalidad : $p > 0.05$

Análisis de Varianza : $p > 0.05$

RGR : Recuento de eritrocitos

VGA : Hematocrito

Hb : Hemoglobina

VCM : Volumen Corpuscular Medio

CHbCM : Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media

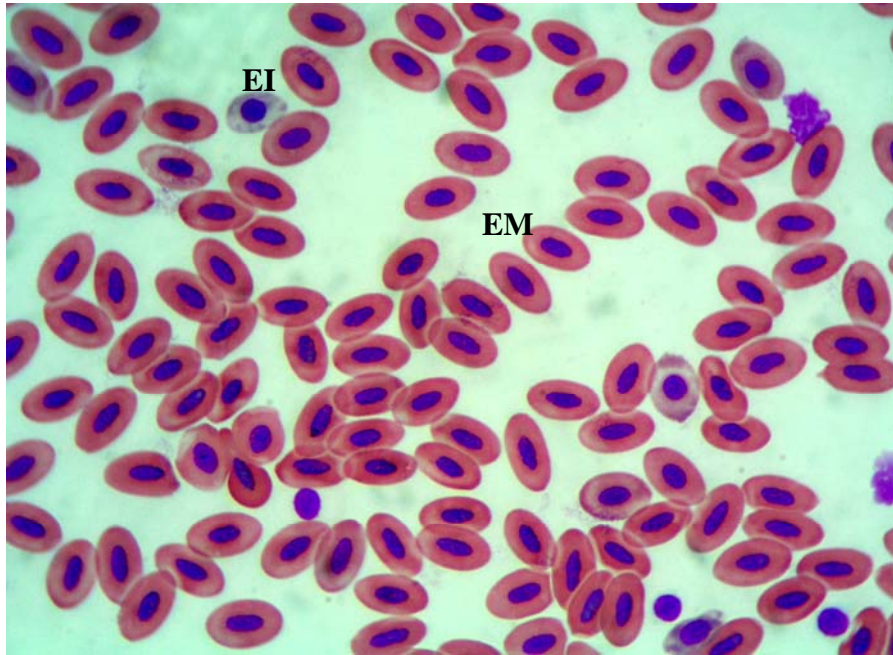


Foto 4: Apariencia de un frotis sanguíneo de *Cygnus melanocoryphus*, con tinción de Wright y observado a 800 X. Se observa un eritrocito inmaduro (EI) y un eritrocito maduro (EM)

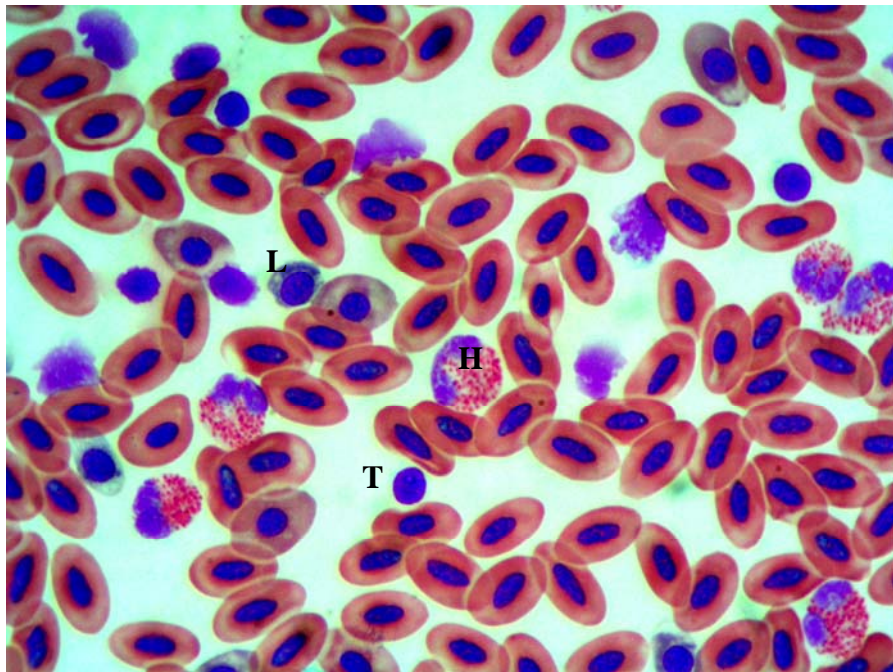


Foto 5: Frotis sanguíneo de *Cygnus melanocoryphus* con la presencia de Heterófilos (H), Linfocitos (L) y Trombocitos (T). Tinción de Wright y observado a 800 x.

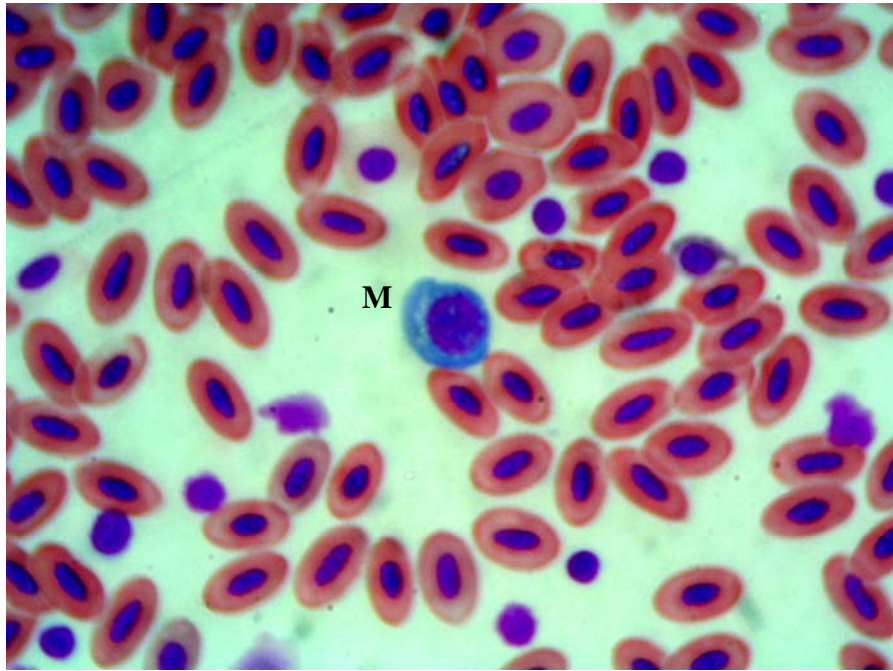


Foto 6: Frotis sanguíneo de *Cygnus melanocoryphus*, en donde se observa un Monocito (M). Tinción de Wright y observado a 800 x.

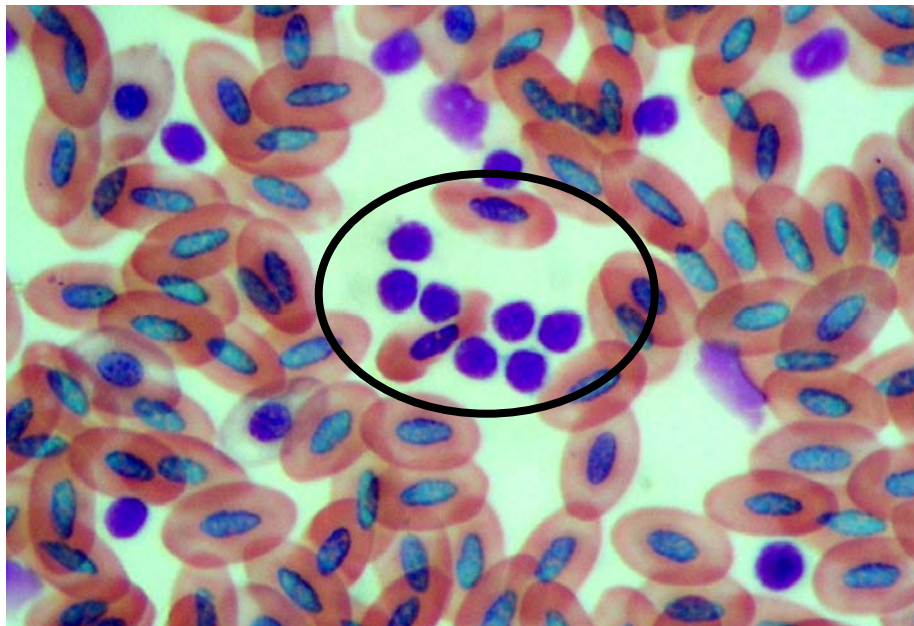


Foto 7: Frotis sanguíneo de *Cygnus melanocoryphus*, en donde se observa una agregación de trombocitos. Tinción de Wright y observado a 1000 x.

5.2 RESULTADOS DE LA SERIE BLANCA

5.2.1 Resultados de la serie blanca en ejemplares inmaduros.

Se presentan en la tabla 6 los valores leucocitarios de los ejemplares inmaduros capturados y analizados (Anexo 12). El valor de la media es cercano a la mediana, excepto los valores absolutos de basófilos y eosinófilos en que sus valores de mediana es cero. En general, presentan una alta desviación estándar incluso superando a la media en algunas variables. Los valores de leucocitos totales son mayores, significativamente sin diferencias, que en adultos y los más numerosos son los linfocitos, seguido por los heterófilos y los monocitos. Los eosinófilos y los basófilos fueron los más escasos. Los valores absolutos de eosinófilos y los relativos de monocitos no siguieron una distribución normal ($p < 0.05$). No se encontró diferencias significativas entre machos y hembras al realizar un análisis de varianza ($p > 0.05$).

TABLA 6: Valores leucocitarios mínimos, máximos, mediana, media y desviación estándar (DE) de 17 *Cygnus melanocoryphus* inmaduros del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	Unidades	n	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	DE
RGB	$\times 10^3/\mu\text{l}$	17	8,8	24,6	14,5	14,4	4,2
Heterófilos	%	17	3	33	19	18,9	8,6
	μl		343	5880	2376	2687	1428
Basófilos	%	17	0	2	0	0,6	0,9
	μl		0	492	0	96	145
Eosinófilos	%	17	0	3	0	0,8	1,2
	μl		0	534	0	107	166
Monocitos	%	17	2	11	7	6,7	2,7
	μl		176	2710	825	987	607
Linfocitos	%	17	53	90	74	72,4	9,4
	μl		5596	19712	10395	10498	3534

RGB : Recuento de Glóbulos Blancos

5.2.2 Resultados de la serie blanca en ejemplares machos adultos.

Los valores descriptivos de los ejemplares machos adultos se muestran en la tabla 7 (Anexo 13). Los valores de media son similares con la mediana excepto en los valores absolutos de basófilos, eosinófilos y monocitos. El valor de los leucocitos es menor que en los ejemplares inmaduros sin ser una diferencia significativa. Los leucocitos más comunes fueron los linfocitos, seguido por los heterófilos y los monocitos, mientras que los eosinófilos y los basófilos fueron los más escasos.

TABLA 7: Valores leucocitarios mínimos, máximos, mediana, media y desviación estándar (DE) de 13 *Cygnus melanocoryphus* machos adultos del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	Unidades	n	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	DE
RGB	x10 ³ / μl	13	9,9	15,8	13,6	13,5	17,4
Heterófilos	%	13	4	40	18	19,5	10,6
	μl		519	5372	2217	2646	1496
Basófilos	%	13	0	2	0	0,4	0,7
	μl		0	281	0	51	88
Eosinófilos	%	13	0	3	0	0,5	1
	μl		0	435	0	64	135
Monocitos	%	13	2	24	5	6,2	6
	μl		246	2640	594	807	684
Linfocitos	%	13	54	91	75	73,9	10,6
	μl		7089	12496	10093	9911	1846

Prueba de Normalidad : p > 0.05
 Análisis de Varianza : p > 0.05
 RGB : Recuento de Glóbulos Blancos

5.2.3 Resultados de la serie blanca en ejemplares hembras adultos.

La cifra de leucocitos totales de las hembras adultas es menor que el de los machos adultos y de los inmaduros, pero no significativos. Al igual que los grupos anteriores, los linfocitos fueron los leucocitos más numerosos, seguido por los heterófilos y los monocitos, siendo los eosinófilos y los basófilos los más escasos. Los resultados se observan en la tabla 8 (Anexo 14).

TABLA 8: Valores leucocitarios mínimos, máximos, mediana, media y desviación estándar (DE) de 16 *Cygnus melanocoryphus* hembras adultas del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	Unid.	n	Mínimo	Máximo	Mediana	Media	DE
RGB	x10 ³ /μl	16	4,0	20,2	11,5	11,7	31,7
Heterófilos	%	16	6	45	18	21,3	10,9
	μl		554	6881	1940	2637	1857
Basófilos	%	16	0	2	0	0,4	0,6
	μl		0	132	0	40	54
Eosinófilos	%	16	0	5	0	0,8	1,4
	μl		0	429	0	80	136
Monocitos	%	16	1	7	3	3,4	1,7
	μl		79	877	420	408	220
Linfocitos	%	16	50	92	77,5	74,2	11,1
	μl		3247	12751	8570	8521	2118

Prueba de Normalidad : p > 0.05
 Análisis de Varianza : p > 0.05
 RGB : Recuento de Glóbulos Blancos

5.2.4 Resultados de la serie blanca del total de ejemplares de Cisnes de cuello negro.

En la tabla 9 se establecen las unidades en que se expresan las variables de la serie blanca y los resultados de la media, la desviación estándar y los límites de referencia inferiores y superiores utilizando el método de promedios en los valores que siguieron una distribución normal, y el método de los percentiles para establecer los límites en los valores que no se distribuían normalmente.

TABLA 9: Media, desviación estándar y límites de referencia para variables hematológicas de la serie blanca de 46 *Cygnus melanocoryphus* del Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

	Unid.	n	Media	DE	Límites de referencia	
RGB	$\times 10^3/\mu\text{l}$	46	13191,3	3448,7	6293,7	20088,8
Heterófilos	%	46	19,9	9,9	0,2	39,6
	μl		2658	1572	0,0	5803
Basófilos	%	46	0,5	0,7	0,0	2
	μl		64	105	0,0	275
Eosinófilos	%	46	0,7	1,2	0,0	3,1
	μl		85	146	0,0	378
Monocitos	%	46	5,4	4	2*	11 [#]
	μl		735	579	115*	2555 [#]
Linfocitos	%	46	73,4	10,2	53,08	93,8
	μl		9645	2755	4134	15155

Prueba de Normalidad : $p > 0.05$
 Análisis de Varianza : $p > 0.05$
 * : Percentil 0,025
 # : Percentil 0,975
 RGB : Recuento de Glóbulos Blancos

5.2.5 Resultado de la serie roja de los ejemplares de Cisne de cuello negro.

En la tabla 10 se muestra los valores de la media y su desviación estándar de la serie roja de los 46 ejemplares capturados. No existió diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los individuos inmaduros y adultos (machos y hembras) en las variables RGR, VGA, Hb, VCM y CHbCM.

TABLA 10: Media y Desviación estándar (DE) de la serie roja de los ejemplares inmaduros, machos adultos y hembras adultas de Cisne de cuello negro.

Unidades		Inmaduros n = 17	Machos adultos n = 13	Hembras adultas n = 16
		media \pm DE	media \pm DE	media \pm DE
RGR	$\times 10^6 / \mu\text{l}$	$2,00 \pm 0,31$	$1,86 \pm 0,37$	$1,8 \pm 0,3$
VGA	%	$41,9 \pm 4,0$	$41,1 \pm 5,3$	$43,4 \pm 4,6$
Hb	g/dl	$12,1 \pm 2,2$	$12,6 \pm 1,9$	$13,5 \pm 1,8$
VCM	fl	$213,3 \pm 35,3$	$225,0 \pm 34,8$	$245,6 \pm 36,7$
CHbCM	g/dl	$28,7 \pm 3,5$	$30,6 \pm 2,1$	$31,1 \pm 2,2$

RGR : Recuento de eritrocitos VGA : Hematocrito Hb : Hemoglobina
VCM : Volumen Corpuscular Medio
CHbCM : Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media

5.2.6 Resultados de la serie blanca de los ejemplares de Cisne de cuello negro.

Los valores absolutos de la media y desviación estándar de la serie blanca de los 46 ejemplares capturados se muestran en la tabla 11 y los valores relativos en la tabla 12. La alta desviación estándar que presentan las variables analizadas se encuentran en individuos inmaduros, machos y hembras adultos. Tal resultado puede deberse a un bajo número de ejemplares capturados y analizados de cada categoría lo que hace ampliar la distribución de valores. Sin embargo, se presentó una constante en la clasificación de células, siendo más abundantes los linfocitos y luego los heterófilos en los tres grupos, y más escasos los monolitos, eosinófilos y los basófilos.

TABLA 11: Media y Desviación estándar (DE) de los valores absolutos de la serie blanca de los ejemplares inmaduros, machos adultos y hembras adultas de Cisne de cuello negro.

Unidades		Inmaduros n = 17	Machos adultos n = 13	Hembras adultas n = 16
		media ± DE	media ± DE	media ± DE
RGB	x 10 ³ / μl	14,4 ± 4,2	13,5 ± 17,4	11,7 ± 31,7
Heterófilos	μl	2687 ± 1428	2646 ± 1496	2637 ± 1857
Basófilos	μl	96 ± 145	51 ± 88	40 ± 54
Eosinófilos	μl	107 ± 166	64 ± 135	80 ± 136
Monocitos	μl	987 ± 607	807 ± 684	408 ± 220
Linfocitos	μl	10498 ± 3534	9911 ± 1846	8521 ± 2118

RGB : Recuento de Glóbulos Blancos

TABLA 12: Media y Desviación estándar (DE) de los valores relativos de la serie blanca de los ejemplares inmaduros, machos adultos y hembras adultas de Cisne de cuello negro.

Unidades		Inmaduros n = 17	Machos adultos n = 13	Hembras adultas n = 16
		media ± DE	media ± DE	media ± DE
Basófilos	%	0,7 ± 0,9	0,4 ± 0,7	0,4 ± 0,6
Eosinófilos	%	0,8 ± 1,2	0,5 ± 1,0	0,8 ± 1,4
Monocitos	%	6,7 ± 2,7	6,2 ± 6,0	3,4 ± 1,7
Linfocitos	%	72,4 ± 9,4	73,9 ± 10,6	74,2 ± 11,1

5.3 RESULTADOS DE EXÁMEN HEMOPARASITARIO

En ninguno de los tres grupos analizados se observó presencia de hemoparásitos del género *Haemoproteus*, *Trypanosoma*, *Plasmodium* y *Leucocytozoon*.

6.- DISCUSIÓN

Según la literatura consultada, parámetros sanguíneos para Cisnes de cuello negro en estado silvestre no han sido descritos, e información sobre lo mismo en anseriformes silvestres es escasa. Por tal motivo, este estudio se encuentra entre los primeros análisis hematológicos de tipo descriptivo para ésta especie con un tamaño muestral apropiado. Debido a la escasa información bibliográfica, se realizaron las comparaciones de valores con otras aves y trabajos de otros países.

Las técnicas de laboratorio utilizadas para la estimación de valores hematológicos en aves difieren considerablemente (Samour y col., 1996; Polo y col., 1998; Scope y col., 2000), por lo que se debe tener en cuenta el protocolo utilizado en el presente trabajo para futuros estudios.

De los 46 ejemplares estudiados, se obtuvieron datos biométricos significativos para el conocimiento biológico de la especie. Al determinar el sexo, peso y longitud total, tanto de individuos adultos como de inmaduros, se logró obtener una base de dato importante para futuros estudios.

6.1 ASPECTOS DE LA SERIE ROJA.

Con respecto al recuento de eritrocitos (RGR), los valores obtenidos en éste estudio son similares a estudios realizados en otros Anseriformes en cautiverio (Jonson-Delaney y Harrison, 1996; Oyewale y col., 1998). Sin embargo, estudios realizados en *Anas superciliosa* y en *Chenonetta jubata* (Mulley 1979; 1980), en *Branta canadensis* y en *Anas platyrhynchos* (Shave y Howard, 1976), en *Anser caerulescens* (Williams y Trainee, 1971) y en *Branta canadensis*, *B. sandvicensis*, *Anser albifrons* y *A. domesticus* (Gee y col., 1981), todos con individuos en cautiverio, obtuvieron cifras similares que las obtenidas en éste estudio. Esto podría explicarse porque las muestras se realizaron en meses de invierno y previo al período reproductivo, en donde la temperatura influye en el sistema eritropoyético, aumentando los niveles de eritrocitos más que en verano (Moye, 1969; Stoskopf y col., 1983b; Campbell, 2000b). Los valores son similares a otros estudios en aves de otras familias (Gee y col., 1981; Hawkey y col., 1983; Hawkey y col., 1984a; Hawkey y col., 1985b; Averbek, 1992; D'Aloia y col., 1996; Dell'Omo y Cavallina, 1996; Villouta y col., 1997) y levemente superiores en algunas especies de otros géneros (Lucas y Jamroz, 1961; Balasch y col., 1973; Balasch y col., 1976; Hawkey y col., 1982; Roskopf y col., 1982; Hawkey y col., 1984a; 1984b; 1985a; Zinkl, 1986; Lane, 1991; Lavín y col., 1992; Peinado y col., 1992; Samour y col., 1996; Polo y col., 1998).

Dentro de las aves, la literatura reporta niveles levemente mayores en machos que en hembras, sin existir diferencias significativas entre ambos sexos (Stoskopf y col., 1983b) lo

que coincide con éste estudio y con otras publicaciones en Anseriformes (Oyewale y col., 1998), atribuyéndose a un efecto eritropoyético temprano de andrógenos (Sturkie y Griminger, 1976; Dawson y Bortolotti, 1997). En especies que no presentan un marcado dimorfismo en los rasgos sexuales secundarios, sería una de las causantes de la baja diferencia entre machos y hembras (Dawson y Bortolotti, 1997; García-Baquero y col., 2002). El Cisne de cuello negro no presenta un marcado dimorfismo sexual y las pequeñas diferencias morfológicas que presentan no serían suficientes para provocar cambios significativos en los eritrocitos totales.

Los individuos fueron muestreados a nivel del mar, por lo tanto, presentan una cantidad de eritrocitos similar a otros géneros de aves a nivel del mar (Averbeck, 1992; Zinkl, 1986). Sin embargo el Cisne de cuello negro, al realizar vuelos hacia Argentina debe superar alturas considerables debiendo adaptarse a dicho evento. Como respuesta a la hipoxia producida por la altura, los vertebrados responden con una policitemia, aumentando el hematocrito y la cantidad de hemoglobina circulante, aumentando la capacidad de transporte de oxígeno, por lo que aumenta la viscosidad y la resistencia al flujo sanguíneo a través de los capilares (Smith y col., 2000). *Anas platyrhynchos* aumenta su hematocrito de 45%, a nivel del mar, a 56% (5640 m.) luego de 4 semanas. Sin embargo, *Anser indicus* no muestra dichos cambios (Black y Tenney, 1980). La variabilidad de respuestas de policitemia a la altura, en éste caso para el Cisne de cuello negro, se sugiere que esta especie se adapta favoreciendo la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno que por sobre la producción de eritrocitos.

Los valores obtenidos del hematocrito (VGA) son similares a los del cisne trompetero (*Cygnus buccinator*), aunque presentó diferencias significativas entre edades (juveniles y adultos). Dicho estudio obtuvo un promedio de 35.3 % de hematocrito, siendo superior en individuos adultos (Olsen y col., 2001), lo que coincide con éste estudio. La ausencia de diferencias significativas en éste estudio podría deberse a que ambos grupos etarios presentan un grado similar de actividad y, por lo tanto, parecidos requerimientos de oxígeno, lo que conlleva a una misma concentración de oxígeno (García-Baquero y col., 2002). También los valores son similares en otros anseriformes (Gee y col., 1981; Hatipoglu y Bagci, 1996; Tadjalli y col., 1996; Oyewale y col., 1998). Los valores son más elevados en períodos fríos o meses de invierno, como lo demuestran los estudios de Shave y Howard (1976) y García - Baquero y col. (2002).

Con respecto a la Hemoglobina (Hb), los valores obtenidos son similares a estudios en Anseriformes (Gee y col., 1981; Hatipoglu y Bagci, 1996). No se encontraron diferencias significativas entre adultos y juveniles como los descritos por Oyewale y col. (1998).

Los Índices de Wintrobe de éste estudio nos revelan que los eritrocitos del Cisne de cuello negro son células relativamente grandes (macroscíticas) con respecto a otras aves, mientras que la cantidad de hemoglobina dentro de la masa eritrocítica es similar. El tamaño de la célula eritrocítica está relacionado con la actividad metabólica de la especie, sumado a su forma elíptica y un tamaño pequeño de los corpúsculos, ofrece la posibilidad de una mayor tasa de intercambio gaseoso (Hartman y Lessler, 1963). Los valores de VCM son menores en animales inmaduros (Oyewale y col., 1998), lo que se corrobora en éste estudio.

Con respecto a los hemoparásitos, la ausencia de parásitos coincide con estudios realizados en otras aves, como en especies de *Cygnus buccinator* en la tundra norteamericana, en que se concluye que están virtualmente ausentes de hemoparásitos (Bennet y col., 1992). En 43 especies de aves de Colombia se registró un promedio de 2 a 3 % de hematozoos (Valkiúnas y col., 2003). Los parásitos sanguíneos tienden a permanecer en estado latente en el hígado, bazo y tejido vascular durante meses fríos, siendo más difícil su pesquisa durante ese período (Burr, 1983). La ausencia de hemoparásitos, además, puede deberse a la ausencia o baja cantidad de vectores artrópodos del género *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Hippobosca*, *Culicoides* y *Simulium* en el Santuario*.

6.2 ASPECTOS DE LA SERIE BLANCA.

El total de números de leucocitos en Cisne de cuello negro fue similar a los valores reportados en *Anas platyrhynchos* (Shave y Howard, 1976; Tadjalli y col., 1996; Hatipoglou y Bagci, 1996) *Anas superciliosa* y en *Chenonetta jubata* (Mulley 1979; 1980), en *Branta canadensis* (Shave y Howard, 1976) y en *Anser caerulescens* (Williams y Trainee, 1971). Además los valores se encuentran dentro de los rangos de la mayoría de las aves (Peinado y col., 1992).

Los resultados de éste estudio revelan que los leucocitos más comunes del Cisne de cuello negro en estado silvestre, tanto en aves inmaduras como en aves adultas, en machos como en hembras, son los linfocitos, presentando una alta proporción y número de dichas células con respecto a las demás. Esto está descrito para la mayoría de los anseriformes sanos, representando entre un 60 a 70% de los leucocitos totales (Campbell, 2000) y estudios en otras familias de aves (Polo y col., 1998). Otros autores describen a los heterófilos como los leucocitos más numerosos (Hawkey y col., 1984; Lavín y col., 1992). Sin embargo, Leonard (1982) reportó que la mayoría de las especies consideradas en su estudio presentan un alto porcentaje de linfocitos o una linfocitosis fisiológica.

Los heterófilos son las siguientes células más abundantes. Campbell (2000) afirma que representan cerca del 35% como promedio de los leucocitos totales en los anseriformes. No se presentó diferencias significativas entre individuos de distinto sexo y edad, confirmando lo descrito por Fairbrother y O'Loughlin (1990). El porcentaje de heterófilos disminuye en el período de muda de las plumas remiges (Driver, 1981). Algunos de los ejemplares capturados se encontraban en su período final de muda, lo que explicaría los bajos niveles de heterófilos.

Los monocitos, los eosinófilos y los basófilos fueron las células menos comunes. Esta baja frecuencia está descrita para anseriformes y otros tipos de aves (Campbell, 2000 Fairbrother y O'Loughlin, 1990; Hatipoglou y Bagci, 1996; Shave y Howard, 1976; Tadjalli y col., 1996).

* Com. Pers.: Dr. Gerold Sievers P.; Dr. Gastón Valenzuela J., Departamento de Parasitología, Instituto de Patología Animal, Universidad Austral de Chile.

El efecto del estrés por captura y transporte se describe en la literatura, con una linfopenia y eosinopenia, un aumento de la relación de heterófilos / linfocitos y una basofilia (Maxwell, 1993; Parga y col., 2001; Scope y col., 2002). Se describe un aumento de los monocitos producto del factor estresante ruido (Maxwell, 1993). En este caso la disminución de linfocitos no se presentó, sin embargo la eosinopenia no se pudo evaluar ya que fueron muy escasos en todas las muestras. Se presentó un aumento de heterófilos pero sin llegar a ser considerable y no se observó un aumento de monocitos por el efecto ruido. Las muestras en que se obtuvo una linfopenia y un aumento de heterófilos, correspondieron a ejemplares que se mantuvieron por mayor tiempo en los corrales y fueron los últimos en la toma de muestras, por lo que el método de captura no influyó en las variables sanguíneas estudiadas.

Estos datos hematológicos descriptivos pueden ser usados como referencias para el diagnóstico de enfermedades con curso clínico en individuos de *Cygnus melanocoryphus*.

Al establecer estos valores se pueden utilizar como recurso para determinar eventuales diferencias con ejemplares mantenidos en cautiverio.

Este estudio reveló valores hematológicos relativamente semejantes y la ausencia de hemoparásitos entre individuos de diferente sexo y edad. Esto, junto a resultados de estudios paralelos realizados con las mismas muestras (Alvarado, 2003)* nos indica que la población de *Cygnus melanocoryphus* del Río Cruces es relativamente sana.

Estos valores sanguíneos son el primer paso para la aplicación de la hematología como método diagnóstico de enfermedades en ésta especie. Sin embargo, se requieren de más estudios hematológicos para entender respuestas a procesos patológicos más específicos o realizar estudios durante verano, época del año en que es probable que aumente la incidencia de hemoparásitos. Proveen una mejor información acerca del estado nutricional y condición corporal de un individuo, de salud y de enfermedad, tanto virales, bacterianas, parasitarias y nutricionales de las aves que conforman ésta población, pudiendo extrapolarla a otras poblaciones y a otras aves del mismo género.

* Com. Pers.: Álvaro Boettcher G., Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

6.3 CONCLUSIONES.

A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que:

El método de captura, el manejo de animales y los procedimientos utilizados para la toma de muestras sanguíneas son realizables y adecuados para la determinación de valores hematológicos del Cisne de cuello negro. Los valores iniciales obtenidos pueden utilizarse como referencia para el *Cygnus melanocoryphus* clínicamente normales en estado silvestre, por lo que se aprueba la hipótesis H₁.

No existen diferencias en las variables hematológicas analizadas entre individuos machos y hembras, ni entre adultos e inmaduros, por lo que se rechaza la hipótesis H₂.

Los ejemplares capturados carecen de hemoparásitos, por lo que se rechaza la hipótesis H₃.

7.- BIBLIOGRAFÍA

- ALVARADO, L. 2003. Prospección de enfermedades virales, *Mycoplasma gallisepticum* y *Salmonella sp.* en cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocorypha*, Molina, 1782) en el santuario de la Naturaleza “Río Cruces”, Valdivia. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile.
- ARAYA, B.; G. MILLIE. 1996. Guía de campo de las aves de Chile. 7° Edición. Editorial Universitaria. Chile.
- AVERBECK, C. 1992. Haematology and blood chemistry of healthy and clinically abnormal Great Black-backed Gulls (*Larus marinus*) and Herring Gulls (*Larus argentatus*). *Avian Pathology*. 21: 215-223.
- AWOTWI, E.; Y. BOOHENE. 1992. Haematological studies on some poultry species in Ghana. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*. 40:1, 65-71.
- BALASCH, J.; L. PALACIOS; S. MUSQUERA; J. PALOMEQUE; M. JIMÉNEZ; M. ALEMANY. 1973. Comparative Hematological values of several galliformes. *Poultry Science*. 52: 1531-1534.
- BALASCH, J.; S. MUSQUERA; L. PALACIOS; M. JIMÉNEZ; J. PALOMEQUE. 1976. Comparative Hematology of some Falconiforms. *The Condor*. 78: 258-273.
- BENNET, G.; B. TURNER; G. HOLTON. 1981. Blood parasites of trumpeter swans, *Olor buccinator*, from Alberta. *Journal of Wildlife Diseases*. 17:2, 213-215.
- BENNET, G.; R. MONTGOMERIE; G. SEUTIN. 1992. Scarcity of haematozoa in birds breeding on the arctic tundra of North America. *The Condor*. 94:7, 289-292.
- BERMES, E.; V. ERVITI; D. FORMAN. 1976. Statistics, Normal Values and Quality Control. En: *Fundamental of Clinical Chemistry*. N. Tietz (Ed.). W.B. Saunders, Co. Philadelphia, USA.
- BERTRAM, E. 1998. Characterization of duck thrombocytes. *Research in Veterinary Science*. 64: 267-270.
- BIRKHEAD, M.; C. PERRINS. 1986. *The Mute Swan*. Croom Helm, London..157 p.
- BLACK, D. 1981. Avian Clinical Pathology. En: *Refresher Course for veterinarians. Proceedings N° 55, Refresher course on Aviary and Caged Birds, February 16 – 20. The University of Sidney.*

- BLACK, C.; S. TENNEY. 1980. Oxygen transport during progressive hypoxia in high-altitude and sea-level waterfowl. *Respiratory Physiology*. 39: 217-239.
- BLANCO, D.; P. CANEVARI. 1992. Censo Neotropical de aves acuáticas 1991. Programa de Ambientes Acuáticos Neotropicales (NWP), Buenos Aires, Argentina.
- BLANCO, D.; P. CANEVARI. 1994. Censo Neotropical de aves acuáticas 1993. Humedales para las Américas (WA), Buenos Aires, Argentina.
- BLAKE, E. 1977. Manual of Neotropical Birds, Volumen 1. The University of Chicago Press, Chicago.
- BOLOGNA, G. 1981. Guía de Aves. 2º Ed. Grijalbo. Barcelona. España.
- BOUNOUS, D.; N. STEDMAN. 2000. Normal Avian Hematology: Chicken and Turkey. En: Schalm's Veterinary Haematology. 5ª Ed.. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.). Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- BURR, E. 1983. Parasites of psittacine blood. *Modern Veterinary Practice*. 64: 4, 333 – 336.
- CAMPBELL, T. 1997. Hematology. En: Avian Medicine: Principles and application. Abridged Edition. B. Ritchie, G. Harrison, L. Harrison (Eds.). Wingers Publishing Inc., Florida.
- CAMPBELL, T. 2000a. Normal hematology of Psittacines. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.). Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- CAMPBELL, T. 2000b. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- CARPENTER, J; T. MASHIMA; D. RUIPIPER. 2001. Exotic Animal Formulary. 2ª Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- CATTAN, P. 2000. Ecología y enfermedades infecciosas emergentes. *Monografías de medicina veterinaria*. 20:1.
- CLEAVELAND, S.; G. HESS; A. DOBSON; M. LAURENSEN; H. McCALLUM; M. ROBERTS; R. WOODROFFE. 2002. The role of pathogens in biological conservation. En: The Ecology of Wildlife Diseases. P. Hudson; A. Rizzoli; B. Grenfell; H. Heesterbeek; A. Dobson (Eds.).Oxford University Press.
- COMITÉ NACIONAL DE HUMEDALES DE CHILE. 2000. Estrategia Nacional Para la Conservación y Uso Racional de los Humedades en Chile. Febrero, 2000.

- CONAF, CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL. 1999. Plan de Manejo Reserva Nacional Río Cruces. (Documento de Trabajo N° 325). Ministerio de Agricultura, Chile.
- CONAF, CORPORACIÓN FORESTAL NACIONAL. 2000. Censos de especies de fauna 1995- 1999; Censos de Áreas de Concentración de Fauna 1995 - 1999; Listado de Vertebrados terrestres y dulceacuícolas de Chile y su Distribución regionalizada. C. Cunnaza e I. Benoit (Eds.). Gobierno de Chile.
- CONVENCIÓN DE RAMSAR. 1996. Manual de la Convención de Ramsar: Una guía a la Convención sobre los Humedales de Importancia Internacional. T. Davis; D. Blasco; M. Carbonell (Eds.). Oficina de la Convención de Ramsar, Gland, Suiza.
- CORTI, P. 1996. Conducta de Alimentación y Capacidad de forrajeo del Cisne de cuello negro (*Cygnus melanocorypha*, Molina, 1782) en humedales de Valdivia. Tesis, M.V., Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias, Valdivia, Chile.
- D'ALOIA, M.; J. SAMOUR; T. BAILEY; J. NALDO; J. HOWLETT. 1996. Normal haematology of the White-billed (*Eudoptis senegalensis*), Little Black (*Eudoptis afra*) and Heuglin's (*Neotis heuglinii*) Bustards. *Comparative Haematology International*. 6: 46-49.
- DASZAK, P.; A. CUNNINGHAM. 2002. Emerging Infectious Diseases: A Key Role for Conservation Medicine. En: Conservation Medicine. Ecological Health in Practice. A. Aguirre; R. Ostfeld; G. Tabor; C. House; M. Pearl. (Eds.). Oxford University Press, Inc. New York.
- DAWSON, R.; G. BORTOLOTTI, 1997. Are avian hematocrits indicative of condition? American kestrels as a model. *Journal of Wildlife Management*. 64:1, 1297-1306.
- DELL'OMO, G.; R. CAVALLINA. 1996. Blood chemistry and haematological values of captive Egyptian vultures (*Neophron pernopterus*). *Avian Pathology*. 25: 613-618.
- DOERR, J.; P. HAMILTON. 1982. New evidence for intrinsic blood coagulation in chickens. *Poultry Science*. 60: 1, 237-242.
- DRIVER, E. 1981. Haematological and blood chemical values of mallard, *Anas platyrhynchos*, drakes before, during, and after remige molt. *Journal of Wildlife Diseases*. 17: 413 - 421. Citado en: T. Campbell. 2000. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- DROUILLY, P. 1976. Primer Censo Nacional del Cisne de cuello negro. *Cygnus melanocoryphus* (MOLINA, 1782), en Chile. *Medio Ambiente*. 2: 1, 57-63.

- EPSTEIN, P. 2002. Biodiversity, Climate Change, and Emerging Infectious Diseases. En: Conservation Medicine. Ecological Health in Practice. A. Aguirre; R. Ostfeld; G. Tabor; C. House; M. Pearl. (Eds.). Oxford University Press, Inc. New York.
- FAIRBROTHER, A.; D. O'LUGHLIN. 1990. Differential white blood cell values of the mallard (*Anas platyrhynchos*) across different ages and reproductive states. *Journal of Wildlife Diseases*. 26: 78-82. Citado en: T. Campbell. 2000. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- FARVER, T. 1997. Concepts of Normality in Clinical Biochemistry. En: Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5th Ed. J. Kaneko; J. Harvey; M. Bruce (Eds.). Ed. Harcourt Brace & Company. USA.
- FREEMAN, B. 1984. Biochemical and Physiological Data. En: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl, Vol. 5. B. Freeman (Ed.), Academic Press Inc., London.
- GARCÍA-BAQUERO, M.; C. DE LA CRUZ; E. SOLÍS; S. ALARCOS. 2002. Variación del hematocrito durante el período reproductor en el Rabilargo *Cyanopica cyanus*. *Ardeola*. 49: 1, 51-57.
- GEE, G.; J. CARPENTER; G. HENSLER. 1981. Species differences in hematological values of captive cranes, geese, raptors and quail. *Journal of Wildlife Management*. 45: 2, 463-483.
- GEOTECNIA CONSULTORES LTDA., 1995. Celulosa Arauco y Constitución S.A..Estudio de Impacto Ambiental. Proyecto Valdivia. Volumen 1.
- GLADE, A. 1993. Libro Rojo de los Vertebrados Terrestres de Chile. 2ªEd. Corporación Nacional Forestal. Santiago. Chile.
- GOODALL, J.; A. JHONSON; R. PHILIPPI. 1951. Las Aves de Chile, su conocimiento y costumbres. Platt Establecimientos Gráficos S.A., Buenos Aires.
- GRACZYK, T.; M. SHAW; M. CRANFIELD; F. BEALL. 1994. Hematologic characteristics of avian malaria cases in African black-footed penguins (*Spheniscus demersus*) during the first outdoor exposure season. *Journal of Parasitology*. 80: 2, 302-308.
- HARTMAN, F.; M. LESSLER. 1963. Erythrocyte measurements in birds. *The Auk*. 80: 467 – 473.
- HARR, K. 2001. Hematologic and biochemical methodologies and the development of reference ranges. En: Proceedings of AAZV, AAWV, ARAV, NAZWV. Joint Conference, September 18-21. Orlando, Florida.

- HATIPOGLU, S.; C. BAGCI. 1996. Some haematological values from Pekin ducks. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*. 109: 5, 172-176.
- HAWKEY, C.; M. HART; J. KNIGHT; J. SAMOUR; D. JONES. 1982. Haematological findings in healthy and sick African grey parrots (*Psittacus erithacus*). *Veterinary Record*. 18: 25, 580-582.
- HAWKEY, C.; J. SAMOUR; D. ASHTON; M. HART; R. CINDERY; J. FFINCH; D. JONES. 1983. Normal and clinical Haematology of captive cranes (Gruiformes). *Avian Pathology*. 12: 73-84.
- HAWKEY, C.; M. HART; J. SAMOUR; J. KNIGHT; R. HUTTON. 1984a. Haematological findings in healthy and sick captive rosy flamingos (*Phoenicopterus ruber ruber*). *Avian Pathology*. 13: 163-172.
- HAWKEY, C.; M. HART; J. SAMOUR. 1984b. Age-related haematological changes and haemopathological responses in Chilean flamingos (*Phoenicopterus chiliensis*). *Avian Pathology*. 13: 223-229.
- HAWKEY, C.; M. HART; J. SAMOUR. 1985a. Normal and clinical Haematology of greater and lesser flamingos (*Phoenicopterus roseus* and *Phoeniconaias minor*). *Avian Pathology*. 14: 537-541.
- HAWKEY, C.; J. SAMOUR; G. HENDERSON; M. HART. 1985b. Haematological findings in captive gentoo penguins (*Pygoscelis papua*) with bumblefoot. *Avian Pathology*. 14: 251-256.
- HODGES, R. 1977. Normal Avian (Poultry) Haematology. En: Comparative Clinical Haematology. R. Archer; L. Jeffcott (Eds.) Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- HUMPHREYS, P. 1978. Ducks, Geese, Swans (Anseriformes). En: Zoo and Wild Animal Medicine. M. Fowler (Ed.). Saunders Company.
- HUTCHINS, M.; B. SMITH; R. ALLARD. 2003. In defense of zoos and aquariums: the ethical basis for keeping wild animals in captivity. Animal Welfare Forum: The Welfare of Zoo Animals. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 223: 7.
- JIMENEZ, A.; R. BARRERA; J. SÁNCHEZ; R. CUENCA; J. RODRÍGUEZ; S. ANDRES; M. MAÑE. 1991. Clinical haematology of the great bustard (*Otis tarda*). *Avian Pathology*. 20: 675 – 680.
- JOHNSON-DELANEY, C.; L. HARRISON. 1996. Exotic Companion Medicine Handbook for Veterinarians. Wingers Publishing, Florida. Citado en: J. Carpenter; T. Mashima; D. Rupiper. 2001. Exotic Animal Formulary. 2a Edición. W.B. Saunders Company. Philadelphia.

- JONES, D.; K. JOHANSEN. 1972. The blood vascular system of birds. En: Avian Biology, Volumen II. Farner, D.; J. King (Eds.). Academic Press, Inc.
- KARESH, W.; M. UHART; E. FRERE; P. GANDINI; E. BRASELTON; H. PUCHE; R. COOK. 1995. Health evaluation of free-ranging rockhopper penguins (*Eudyptes chrysocomes*) in Argentina. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 30: 1, 25-31.
- KORBEL, R. 1990. Praxis der Injektions- und Blutentnahme- techniken am Vogelpatienten. *Tierärztl Prax*. 18: 601-611
- KRAFT, H. 1999. Métodos de laboratorio clínico en medicina veterinaria de mamíferos domésticos. Editorial Acribia S.A., Zaragoza.
- LANE, R. 1991. Basic Techniques in Pet Avian Clinical Pathology. En: The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Pet Avian Medicine. November, 1991, Volume 21, Number 6. W. Rosskopf; R. Woerpel (Eds.). Saunders Company, Philadelphia.
- LAVÍN, S.; R. CUENCA; I. MARCO; R. VELARDE; L. VIÑAS. 1992. Haematology and blood biochemistry of carpecaillie (*Tetrao urogallus*). *Avian Pathology*. 21: 711-715.
- LEONARD, J. 1982. Clinical Laboratory Examinations. En: Diseases of Cage and Aviary Birds. 2nd Ed. M. Petrak (Ed.). Lea & Febiger, Philadelphia.
- LUCAS A.; C. JAMROZ. 1961. Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monograph 25, United States Department of Agriculture. Washington.
- LUMSDEN, J. 2000. Interpretación de los resultados de Laboratorio. En: Manual de Patología Clínica en Pequeños Animales. M. Davidson; R. Else; J. Lumsden (Eds.). Ed. Harcourt, España.
- MAXWELL, M. 1993. Avian blood leucocyte responses to stress. *World's Poultry Science Journal*. 49: 1, 34 - 43.
- MERRIT, E.; C. FRITZ; E. RAMSAY. 1996. Hematologic and serum biochemical values in captive American flamingos (*Phoenicopterus ruber ruber*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 10: 3, 163-167.
- MOLINA, I. 1782. Anas Melancorypha. *Sagg. Ster. Nat. Chile*: 234 – 244.
- MONTANI, R. 1988. Comparative Pathology of inflammation in the Higher Vertebrates (Reptiles, Birds and Mammals). *Journal of Comparative Pathology*. 99: 1-26.
- MOYE, R.; K. WASHBURN; T. HUSTON. 1969. Effects of environmental temperature on erythrocyte numbers and size. *Poultry Science*. 48: 5.

- MULLEY, R. 1979. Haematology and blood chemistry of the black duck (*Anas superciliosa*). *Journal of Wildlife Disease*. 15: 437-441. Citado en: T. Campbell. 2000. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- MULLEY, R. 1980. Haematology of the wood duck (*Chenonetta jubata*). *Journal of Wildlife Disease*. 16: 271-273. Citado en: T. Campbell. 2000. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- NAROSKY, T.; D. IZURIETA. 2003. Guía para la identificación de las aves de Argentina y Uruguay. Edición de Oro. Vásquez Mazzini Editores, Buenos Aires.
- OLSEN, G.; D. RININGER; M. ETS; W. SLADEN. 2002. Baseline haematology and clinical chemistry results from captive- raised Trumpeter Swans. *Waterbirds* 25 (Special Publication 1), 375 – 379.
- OTS, I.; P. HORAK. 1998. Health impact of blood parasites in breeding great tits. *Oecologia*. 116: 4, 441-448.
- OYEWALE, J.; F. OLAYEMI; S. RAHMAN. 1998. Blood characteristics of the Nigerian local duck (*Anas platyrhynchos*). I. Red blood cell characteristics. *Veterinaski Archives*. 68: 6, 199-204.
- PADILLA, L.; K. HUYVAERT; J. MERKEL; R. MILLER; P. PARKER. 2001. Hematology, Plasma Chemistry, Serology and Chlamydothyla status of the waved albatross (*Phoebastria irrorata*) on the Galapagos Islands. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 34: 3, 278-283.
- PARGA, M.; H. PENDL; N. FORBES. 2001. The effects of transport on hematologic parameters in trained and untrained Harris's hawks (*Parabuteo unicinctus*) and peregrine falcons (*Falco peregrinus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*. 15: 3, 162-169.
- PARADA, M. 2000. Herramientas de conservación en ambientes lacustres salinos del norte de Chile. Encuentro universitario sobre conservación y manejo de fauna silvestre, Universidad de Chile. Santiago, Chile.
- PEINADO, V.; F. POLO; G. VISCOR; J. PALOMEQUE. 1992. Haematology and blood chemistry values for several flamingo species. *Avian Pathology*. 21: 55-64.
- PIERSON, F. 2000. Laboratory Techniques for Avian Haematology. En: Schalm's Veterinary Haematology. 5th Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.). Lyppincott Williams & Wilkins. USA.

- POLO, F; V. PEINADO; G. VISCOR; J. PALOMEQUE. 1998. Hematologic and plasma chemistry values in captive psittacine birds. *Avian Diseases*. 42: 523-535.
- ROSSKOPF, W.; R. WOERPEL; G. ROSSKOPF; D. VAN DE WATER. 1982. Hematologic and blood chemistry values for common pet avian species. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*. 77: 8, 1233-1239.
- ROTTMAN, J.; M. LÓPEZ-CALLEJA, 1991. Estrategia nacional de conservación de aves de Chile: especies, áreas afectadas y causas de disminución. I Congreso chileno de ornitología y III Encuentro Nacional de Ornitólogos. Valdivia, Chile.
- ROTTMAN, J.; M. LÓPEZ-CALLEJA, 1992. Estrategia nacional de conservación de aves. SAG. División de protección de los Recursos Naturales Renovables. (Serie Técnica 1: 1-16).
- SALAZAR, J. 1988. Censo poblacional del cisne de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) en Valdivia. III Simposio de Vida Silvestre. *Medio Ambiente*. 9: 1, 78-87.
- SAMOUR, J.; M. D'ALOIA; J. HOWLETT. 1996. Normal Hematology of Captive Saker Falcons (*Falco cherrug*). *Comparative Haematology International*. 6: 50-52.
- SAG, SERVICIO AGRICOLA Y GANADERO. 1998. Cartilla de Caza. Departamento de protección de recursos naturales renovables. Subdepartamento de divulgación técnica. Chile.
- SCHLATTER, R.; J. SALAZAR; A. VILLA; J. MEZA. 1991a. Demography of Black-necked Swans *Cygnus melanocoryphus* in three Chilean wetland areas. En: J. Sears; P. Bacon. (Eds.). Proceedings Third IWRB International Swan Symposium, Oxford 1989. *Wildfowl*, Supplement N°1.
- SCHLATTER, R.; SALAZAR; A. VILLA; J. MEZA. 1991b. Reproductive biology of Black-necked Swans *Cygnus melanocoryphus* in three Chilean wetland areas. En: J. Sears; P. Bacon. (Eds.). Proceedings Third IWRB International Swan Symposium, Oxford 1989. *Wildfowl*, Supplement N°1.
- SCHLATTER R. 1992. Santuario de la Naturaleza e Investigación Científica "Carlos Anwandter" en el Río Cruces, Valdivia. Ficha Informativa sobre Humedales Ramsar. Compilado por Dr. R. Schlatter V., Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- SCHLATTER, R. 1998. El cisne de cuello negro en Chile. En: La Conservación de la Fauna Nativa de Chile. Logros y Perspectivas. Víctor Valverde (Ed.). CONAF. Ministerio de Agricultura. Chile.

- SCHLATTER, R.; Y. MANSILLA. 1998. Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar. Categorías aprobadas por la Recomendación 4.7 de la Conferencia de las partes Contratantes.
- SCHLATTER, R.; L. ESPINOSA; Y. VILINA. 2001. Coasts of Central and Southern Chile (Región 15). En: Los Humedales de América del Sur, una agenda para la conservación de su Biodiversidad y las Políticas de Desarrollo. Resumen Ejecutivo. P. Canevari; I. Davidson; D. Blanco; G. Castro; E. Bucher (Eds.). *Wetlands International*: 14 y CD.Book.
- SCHLATTER, R.; R. NAVARRO; P. CORTI. 2002. Effects of El Niño Southern Oscillation on Numbers of Black-necked Swans at Río Cruces Sanctuary, Chile. En: E. C. Rees, S. L. Earnst and J. Coulson (Eds.). Proceedings of the Fourth International Swan Symposium 2001. *Waterbirds* 25: Special Publication 1. 114-122.
- SCHWARZE, E. 1970. Compendio de Anatomía veterinaria. Volumen V: Anatomía de las Aves Domésticas. Editorial Acribia, Zaragoza.
- SCOPE, A.; I. SCHWENDENWEIN; F. ENDERS; C. GABLER; E. SEIDL; T. FILIP.; V.SOKLARIDIS. 2000. Hematologic and clinical chemistry reference values in Red lories (*Eos spp.*). *Avian Diseases*. 44: 885-890.
- SCOPE, A.; T. FILIP; C. GABLER; F. RESCH. 2002. The influence of stress from transport and handling on Hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Diseases*. 46: 224-229.
- SCOTT, P.; THE WILDFOWL TRUST, 1972. The Swans. Houghton Mifflin Company, Boston, London.
- SHAVE, H.; V. HOWARD. 1976. A hematologic survey of captive waterfowl. *Journal of Wildlife Disease*. 12: 195-201. Citado en: T. Campbell. 2000. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lyppincott Williams & Wilkins. USA.
- SMITH, F.; N. WEST.; D. JONES. 2000. The Cardiovascular System. En: Sturkie's Avian Physiology. 5th Ed. G. Witthow (Ed.). Academic Press. USA.
- STOSKOPF, M.; E. NEELY; B. MANGOLD. 1983a. Avian Hematology in Clinical Practice. *Modern Veterinary Practice*. 64: 8, 629-632.
- STOSKOPF, M.; E. NEELY; B. MANGOLD. 1983b. Avian Hematology in Clinical Practice. *Modern Veterinary Practice*. 64: 9, 713-717.

- STURKIE, P. 1976. Blood: Physical Characteristics, Formed Elements, Hemoglobin and Coagulation. En: Avian Physiology. 3th Ed. P. D. Sturkie (Ed.) Springer-Verlag, New York.
- STURKIE, P.; P. GRIMINGER. 1976. Blood: physical characteristics, formed elements, hemoglobin, and coagulation. En: Avian Physiology. P. Sturkie (Ed.). Springer, Berlin.
- TADJALLI, M.; S. HABIBABADI; M. SEADI. 1996. Hematological values of healthy native Iranian ducks. *Journal of Applied Animal Research*. 10:2, 207-210.
- UHART, M.; F. QUINTANA; W. KARESH; W. BRASELTON. 2003. Hematology, plasma biochemistry and serosurvey for selected infectious agents in southern giant petrels from Patagonia, Argentina. *Journal of Wildlife Diseases*. 39: 2, 359-365.
- VALKIÚNAS, G.; P. SALAMAN; T. IEZHOVA. 2003. Paucity of Hematozoa in Colombian Birds. *Journal of Wildlife Diseases*. 39: 2, 445-448.
- VENEGAS, C. 1991. Aves de Magallanes. Editorial Antártica. Chile.
- VILINA, Y.; H. COFRÉ, C. SILVA-GARCÍA; M. GARCÍA; C. PÉREZ-FRIEDENTHAL. 2002. Effects of El Niño on abundance and breeding of Black-necked Swans on El Yali Wetland in Chile. En: E. C. Rees, S. L. Earnst and J. Coulson (Eds.). Proceedings of the Fourth International Swan Symposium 2001. *Waterbirds* 25: Special Publication 1. 123-127.
- VILLOUTA, G.; R. HARGREAVES; V. RIVEROS. 1997. Haematological and clinical biochemistry findings in captive Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*). *Avian Pathology*. 26: 851-858.
- WATSON, G. 1975. Birds of the Antarctic & Subantarctic. American Geophysical Union. Washington D.C. U.S.A.
- WELLER, M. 1972. Ecological studies of Falkland Islands waterfowl. *Wildfowl*. 23: 25-44.
- WILLIAMS, J.; D. TRAINES. 1971. A hematological study of snow, blue and Canada geese. *Journal of Wildlife Disease*. 7: 258. Citado en: T. Campbell. 2000. Normal hematology of waterfowl. En: Schalm's Veterinary Hematology. 5ª Ed. B. Seldman; J. Zinkl; N. Jain (Eds.) Lippincott Williams & Wilkins. USA.
- WITWER, F.; H. BÖHMWALD, 1983. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- ZINKL, J. 1986. Avian Hematology. En: Schalm's Veterinary Haematology. 4th Ed., N. Jain (Ed.). Lea & Febiger, Philadelphia.

8.- ANEXOS

ANEXO 1: Autorización N° 458 de la Unidad de Patrimonio Silvestre de la Corporación Nacional Forestal, Región de Los Lagos, Puerto Montt, para la investigación en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

REGION DE LOS LAGOS
U. G. PATRIMONIO SILVESTRES N° 288
U. T. PATRIMONIO SILVESTRES N° 75

N° 458.
REF.: AUTORIZA INVESTIGACION EN S.
DE LA NATURALEZA RÍO CRUCES.

PUERTO MONTT: 23 MAYO 2003.

SEÑORES.
CALUDIO VERDUGO REYES.
UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE.
CAMPUS ISLA TEJA S/N.
VALDIVIA.

De mi consideración:

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

Sin otro particular, saluda atentamente a Ud.,

PEDRO BAHAMONDEZ BARRIA
DIRECTOR REGIONAL CONAF
REGION DE LOS LAGOS

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

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

CONAF X REGION
AUTORIZACION N° 110
PUERTO MONTT, 22 DE MAYO 2003

La Corporación Nacional Forestal, X Región, representada por su Director Regional Sr. Pedro Bahamondez Barría, autoriza al Sr. Claudio Verdugo Reyes, Investigador de la Universidad Austral de Chile, con domicilio Campus Isla Teja s/n, Valdivia, para la realización del proyecto titulado “Valores hematológicos de Cisnes de Cuello Negro (*Cygnus melanocoryphus*, Molina 1782) en poblaciones silvestres, Chile” desde Mayo 2003 a Diciembre 2003.

Los investigadores asociados son:

- Roberto P. Schlatter V.

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

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

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

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

OBSERVACIONES:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

NOMBRE : PEDRO BAHAMONDEZ BARRIA

CARGO : DIRECTOR REGIONAL X REGION, CONAF

FECHA : 22 DE MAYO DE 2003.

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

SANTIAGO, 22 agosto 2003

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

RESUELVO.

PRIMERO: Autorizase al Sr. Roberto Schlatter V., CI N° 4.773.676-5, con domicilio en el instituto de Zoología de la Universidad Austral de Chile, y al Sr. Claudio Verdugo Reyes, CI N° 14.131.581-1, con domicilio en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, la captura y caza de cisnes de cuello negro (*Cygnus melanocoryphus*) con fines científicos, de acuerdo a las normas de la presente Resolución.

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

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

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

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

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

QUINTO: El Sr. Schlatter, en calidad de responsable del proyecto deberán entregar un informe, una vez concluidas las labores de terreno, al Departamento de Protección de Recursos Naturales del Servicio y a la Dirección Regional SAG X Región, de las actividades realizadas, resultados obtenidos; debiendo remitir además,

copia de los artículos que sean publicados con los datos obtenidos en terreno, incluidos tesis y presentaciones a seminarios.

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

MARIO LAGOS SUBIABRE
INGENIERO AGRONOMO
JEFE DEPARTAMENTO DE PROTECCION
RECURSOS NATURALES RENOVABLES(S)

ANEXO 4: Tabla de datos de sexo, edad, peso y longitud utilizada durante las capturas de los Cisnes de Cuello Negro en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de Cisne	Sexo		Edad		Peso (kg.)	Longitud (cms.)
	Macho	Hembra	Inmaduro	Adulto		
1		*	*		4,7	95
2		*	*		6,6	107
3		*	*		4,9	97
4	*			*	8	123
5		*	*		5	100
6		*	*		5,5	106
7		*	*		4,9	98
8		*		*	5,9	107
9	*			*	5,3	106
10		*		*	4,9	107
11	*			*	5,4	119
12	*			*	5,9	107
13		*		*	4,1	104
14	*			*	4,8	108
15	*			*	5	104
16		*		*	6,9	122
17		*	*		4,5	102
18	*			*	5,3	113
19		*		*	5,9	104
20	*			*	7	122
22	*		*		6	114
23	*		*		6	116
24		*		*	3,7	100
25	*			*	5,5	123

26		*		*	4,7	113
27		*	*		4,7	99
30	*			*	7	121
31		*	*		4,6	100
33	*		*		5,3	118
35	*		*		5,5	103
36		*		*	6,7	113
37		*		*	7	108
38	*		*		6	110
39		*		*	6,1	111
40		*		*	6,7	112
41		*		*	7,2	110
42	*			*	6,8	114
43		*		*	5,5	110
44		*		*	5,8	109
45		*	*		3,9	101
46		*		*	5,2	120
47	*			*	6,4	115
48		*		*	5,9	108
49		*	*		5,5	114
50	*		*		4	105
51	*			*	3	106
Total	19	27	17	29	255,2	5024
Promedio					5,55	109,22

ANEXO 5: Resultados biométricos de los 17 cisnes de cuello negro inmaduros capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de Cisne	Peso (kg.)	Longitud (cm.)
1	4,7	95
2	6,6	107
3	4,9	97
5	5	100
6	5,5	106
7	4,9	98
17	4,5	102
22	6	114
23	6	116
27	4,7	99
31	4,6	100
33	5,3	118
35	5,5	103
38	6	110
45	3,9	101
49	5,5	114
50	4	105
Promedio	5,15	105,00

ANEXO 6: Resultados biométricos de los 13 cisnes de cuello negro machos adultos capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de Cisne	Peso (kg.)	Longitud (cms.).
4	8	123
9	5,3	106
11	5,4	119
12	5,9	107
14	4,8	108
15	5	104
18	5,3	113
20	7	122
25	5,5	123
30	7	121
42	6,8	114
47	6,4	115
51	3	106
Promedio	5,8	113,92

ANEXO 7: Resultados biométricos de los 16 cisnes de cuello negro hembras adultas capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de Cisne	Peso (kg.)	Longitud (cms.)
8	5,9	107
10	4,9	107
13	4,1	104
16	6,9	122
19	5,9	104
24	3,7	100
26	4,7	113
36	6,7	113
37	7	108
39	6,1	111
40	6,7	112
41	7,2	110
43	5,5	110
44	5,8	109
46	5,2	120
48	5,9	108
Promedio	5,76	109,88

ANEXO 8: Diluyente 2B Metil Violeta utilizado según el método de Natt y Herrick.

Na Cl	3.88 g
Na ₂ SO ₄	2.5 g
Na ₂ HPO ₄ 12 H ₂ O	2.91 g
KH ₂ PO ₄	0.25 g
Formalina (37%)	7.50 ml
2B Metil violeta	0.10 g
Agua destilada	1.000 ml

La solución debe ser filtrada a través de papel Whatman N° 2 y con un pH final de 7.3.

ANEXO 9: Resultados de valores hematológicos de la serie roja de los 17 ejemplares inmaduros de *Cygnus melanocoryphus* capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de Cisne	RGR (x10⁶/μl)	VGA (%)	Hb (g/dl)	VCM (fl)	CHbCM (g/dl)
1	2,10	36	9,3	171,4	25,8
2	1,90	39	10,6	205,3	27,2
3	1,48	35	8,2	236,5	23,4
5	1,70	37	8,8	217,6	23,8
6	1,77	40	9,7	226,0	24,3
7	2,42	41	10,3	169,4	25,1
17	2,02	43	12,7	212,9	29,5
22	2,58	45	14,3	174,4	31,8
23	2,40	44	13,9	183,3	31,6
27	1,91	49	13	256,5	26,5
31	2,08	48	15,1	230,8	31,5
33	1,92	44	11,9	229,2	27,0
35	2,11	43	14,5	203,8	33,7
38	2,20	41	13	186,4	31,7
45	1,48	46	15	310,8	32,6
49	1,76	38	12,3	215,9	32,4
50	2,19	43	12,6	196,3	29,3

ANEXO 10: Resultados de valores hematológicos de la línea roja de los 13 ejemplares machos adultos de *Cygnus melanocoryphus* capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwanter”.

N° de Cisne	RGR (x10⁶/μl)	VGA (%)	Hb (g/dl)	VCM (fl)	CHbCM (g/dl)
4	1,89	38	9,3	201,1	24,5
9	1,51	40	12,4	264,9	31,0
11	1,69	43	12,8	254,4	29,8
12	2,90	39	11,8	134,5	30,3
14	1,66	38	11,1	228,9	29,2
15	1,95	47	14,4	241,0	30,6
18	1,84	38	11,9	206,5	31,3
20	1,60	35	11,2	218,8	32
25	1,93	39	12,7	202,1	32,6
30	1,84	45	14,2	244,6	31,6
42	1,45	37	12,1	255,2	32,7
47	2,17	55	17	253,5	30,9
51	1,82	40	12,7	219,8	31,8

ANEXO 11: Resultados de valores hematológicos de la línea roja de los 16 ejemplares hembras adultas de *Cygnus melanocoryphus* capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de Cisne	RGR (x10⁶/μl)	VGA (%)	Hb (g/dl)	VCM (fl)	CHbCM (g/dl)
8	1,69	41	11,1	242,6	27,1
10	1,46	31	10,6	212,3	34,2
13	1,54	43	12,3	279,2	28,6
16	2,24	45	12,7	200,9	28,2
19	2,04	46	14,8	225,5	32,2
24	2,06	48	15,8	233,0	32,9
26	2,03	44	13,2	216,7	30
36	1,46	43	14,6	294,5	34,0
37	1,91	45	13,9	235,6	30,9
39	1,50	42	12,5	280,0	29,8
40	1,50	41	12,5	273,3	30,5
41	1,77	42	12,8	237,3	30,5
43	2,21	45	13,5	203,6	30,0
44	2,13	43	14,9	201,9	34,7
46	1,68	54	17,7	321,4	32,8
48	1,55	42	13,3	271,0	31,7

ANEXO 12: Resultados de valores hematológicos de la línea blanca de los 17 ejemplares inmaduros de *Cygnus melanocoryphus* capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

<hr/>							
N° de							
Cisne	Unid.	Heterófilos	Basófilos	Eosinófilos	Monocitos	Linfocitos	RGB
1	%	27	0	0	7	66	100
	μl	3861	0	0	1001	9438	14300
2	%	15	0	1	7	77	100
	μl	2376	0	158.4	1108.8	12196.8	15840
3	%	16	0	0	9	75	100
	μl	2358.4	0	0	1326.6	11055	14740
5	%	6	0	0	7	87	100
	μl	871.2	0	0	1016.4	12632.4	14520
6	%	17	0	0	9	74	100
	μl	2543.2	0	0	1346.4	11070.4	14960
7	%	27	0	2	2	69	100
	μl	4217.4	0	312.4	312.4	10777.8	15620
17	%	24	0	0	6	70	100
	μl	2798.4	0	0	699.6	8162	11660
22	%	16	0	3	11	74	100
	μl	2851.2	0	534.6	1960.2	13186.8	17820
23	%	21	2	3	7	69	100
	μl	2079	198	297	693	6831	9900
27	%	19	1	3	9	53	100
	μl	2006.4	105.6	316.8	950.4	5596.8	10560
31	%	13	0	0	6	81	100
	μl	1487.2	0	0	686.4	9266.4	11440

33	%	7	2	0	11	80	100
	μl	1724.8	492.8	0	2710.4	19712	24640
35	%	3	1	0	6	90	100
	μl	343.2	114.4	0	686.4	10296	11440
38	%	33	0	2	6	59	100
	μl	3484.8	0	211.2	633.6	6230.4	10560
45	%	21	2	0	2	75	100
	μl	1848	176	0	176	6600	8800
49	%	30	2	0	5	63	100
	μl	4950	330	0	825	10395	16500
50	%	27	1	0	3	69	100
	μl	5880.6	217.8	0	653.4	15028.2	21780

ANEXO 13: Resultados de valores hematológicos de la línea blanca de los 13 ejemplares machos adultos de *Cygnus melanocoryphus* capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

<hr/>							
N° de							
Cisne	Unid.	Heterófilos	Basófilos	Eosinófilos	Monocitos	Linfocitos	RGB
4	%	13	0	1	11	75	100
	µl	1973.4	0	151.8	1669.8	11385	15180
9	%	17	0	0	6	77	100
	µl	1683	0	0	594	7623	9900
11	%	25	0	0	6	69	100
	µl	3960	0	0	950.4	10929.6	15840
12	%	18	0	0	2	80	100
	µl	2811.6	0	0	312.4	12496	15620
14	%	10	0	0	8	82	100
	µl	1408	0	0	1126.4	11545.6	14080
15	%	29	0	0	2	69	100
	µl	3764.2	0	0	259.6	8956.2	12980
18	%	4	0	0	6	91	100
	µl	519.2	0	0	778.8	11811.8	12980
20	%	18	1	2	2	68	100
	µl	2217.6	123.2	246.4	246.4	8377.6	12320
25	%	37	0	3	3	54	100
	µl	5372.4	0	435.6	435.6	7840.8	14520
30	%	11	0	0	24	82	100
	µl	1210	0	0	2640	9020	11000
42	%	20	1	0	5	74	100
	µl	2728	136.4	0	682	10093.6	13640

47	%	12	2	0	3	83	100
	μl	1689.6	281.6	0	422.4	11686.4	14080
51	%	40	1	0	3	56	100
	μl	5064	126.6	0	379.8	7089.6	12660

ANEXO 14: Resultados de valores hematológicos de la línea blanca de los 16 ejemplares hembras adultos de *Cygnus melanocoryphus* capturados en el Santuario de la Naturaleza “Carlos Anwandter”.

N° de							
Cisne	Unid.	Heterófilos	Basófilos	Eosinófilos	Monocitos	Linfocitos	RGB
8	%	13	0	0	4	83	100
	µl	1601.6	0	0	492.8	10225.6	12320
10	%	28	0	0	2	70	100
	µl	3203.2	0	0	228.8	8008	11440
13	%	13	0	0	3	84	100
	µl	1630.2	0	0	376.2	10533.6	12540
16	%	14	0	1	4	81	100
	µl	1601.6	0	114.4	457.6	9266.4	11440
19	%	6	0	0	5	92	100
	µl	660	0	0	550	10120	11000
24	%	17	1	0	5	79	100
	µl	1832.6	107.8	0	539	8516.2	10780
26	%	11	1	0	6	79	100
	µl	1273.8	115.8	0	694.8	9148.2	11580
36	%	16	1	5	2	76	100
	µl	1372.8	85.8	429	171.6	6520.8	8580
37	%	40	0	2	3	55	100
	µl	5104	0	255.2	382.8	7018	12760
39	%	34	0	0	3	63	100
	µl	6881.6	0	0	607.2	12751.2	20240
40	%	27	0	0	7	66	100
	µl	3385.8	0	0	877.8	8276.4	12540

41	%	22	0	2	4	71	100
	μl	2516.8	0	228.8	457.6	8122.4	11440
43	%	19	0	0	1	80	100
	μl	2048.2	0	0	107.8	8624	10780
44	%	21	1	0	2	76	100
	μl	2587.2	123.2	0	246.4	9363.2	12320
46	%	14	2	0	2	82	100
	μl	554.4	79.2	0	79.2	3247.2	3960
48	%	45	1	2	2	50	100
	μl	5940	132	264	264	6600	13200

9.- AGRADECIMIENTOS

Desde un comienzo, creíste en mí y en mis proyectos, en esta poca comprendida forma de vivir la Medicina Veterinaria, nuestra profesión. Gracias por las experiencias y vivencias en esa oficina de calcomanías y libros, por esa admirable y eterna paciencia y comprensión, por las alegrías y la amistad, Dr. Roberto P. Schlatter V.

Al Dr. Fernando Wittwer, que desinteresadamente y fuera de sus planes aceptó apoyar este proyecto, la cual sin su ayuda difícilmente se hubiese logrado.

Al Dr. Kösters, por su colaboración en este proyecto y en los conocimientos entregados durante mis últimos años de universidad.

A las T.M. Helga Böhmwald y Hella Ludwig por su colaboración en el análisis de laboratorio y enseñarme un mundo completamente nuevo para mí.

A mis padres, Claudio y Bessie, que desde siempre estuvieron apoyándome a realizar, concretar y finalizar este ciclo. Mi sueño. Ahora comienzo uno nuevo.

A Rodrigo y Pamela. Gracias por las palabras y respuestas en esos momentos en que no las tuve.

A mis amigos de siempre, “Los Piratas”. Por hacer de mi vida universitaria no solo de estudio.

A los guardafaunas Roberto Rosas y Luis Miranda.

A Toquinho & Vinicius, a DJ Krust, a Piazzola, a Gotan Project, Chico Buarque, Café del Mar, y tantos más, que me acompañaron con sus melodías durante este trabajo.

A Mirela Noro y Ronnie Reyes, por su colaboración en el análisis estadístico, a Marcos Navarro por el dibujo de contraportada, a Patricio Romero por imagen satelital y a todos los que aportaron, criticaron, creyeron, y a los que me apoyaron para finalizar este trabajo y ciclo.