



**INFORME FINAL DEL ESTUDIO SANITARIO-AMBIENTAL
DE LAS GAVIOTAS DE AUDOUIN (*Larus audouinii*) Y
PATIAMARILLA (*L. michahellis*) EN EL RNC ISLAS
CHAFARINAS: Toxicología (FASE INICIAL)**

INDICE

| | |
|--|----|
| 1. Captura ejemplares | 3 |
| 2. Hematología | |
| 2.1. Metodología empleada | 4 |
| 2.2. Resultados | |
| 2.2.1. Larus michahellis | 5 |
| 2.2.2. Larus audouinii | 6 |
| 3. Bioquímica sanguínea | 11 |
| 3.1. Metodología empleada | 11 |
| 3.2. Resultados | |
| 3.2.1. Bioquímica sanguínea en L. michahellis | 13 |
| 3.2.2. Bioquímica sanguínea en L. audouinii | 17 |
| 3.2.3. Minerales plasmáticos en L. michahellis | 19 |
| 3.2.4. Minerales plasmáticos en L. audouinii | 21 |
| 3.2.5. Enzimas en L. michahellis y audouini..... | 23 |
| 4. Consideraciones finales | 25 |
| 5. Anexo 1 | 26 |
| 6. Anexo 2..... | 31 |

1.- CAPTURA DE EJEMPLARES

Se aplicó, siempre que fue posible, el protocolo de recogida de muestras puesto a punto en sucesivas reuniones entre OAPN, GENA, CISA-INIA y UCM (ver anexo 1). Hubo algunos cambios en las fechas de muestreo, ya que la gaviota de Audouin se muestreó en la semana del 12 al 19 de mayo. Como ya se apuntaba, la dificultad principal fue la extracción del volumen necesario de sangre de todos los ejemplares, que no siempre fue posible. Los hisopos cloacales y orofaríngeos se recogieron sin dificultad, así como las distintas medidas biométricas, y, dado que el sexo de los animales presentaba ciertas dudas, se recogieron las plumas cobertoras para el sexado de los animales en el Dpto de Genética de la Facultad de Biología de la UCM. En el Anexo 2 se refiere la localización de la captura de los diferentes ejemplares, así como su identificación mediante anillas metálicas y de PVC (cuando fue posible) y la biometría realizada, según el modelo de ficha acordada.

Se recogieron un total de 51 ejemplares adultos de *Larus michaellis* en los dos muestreos realizados en Febrero (12 – 19) y Abril (9 – 16) del 2007. La mayor parte de ellos se recogieron en la isla Isabel II, en el quemadero de basura utilizado por el ejército, mientras que 19 se capturaron mediante trampas individuales colocadas sobre el nido, en las islas de Rey y Congreso, posibilitando de esta forma recoger al mismo tiempo muestra del adulto capturado y del huevo correspondiente. Todos los ejemplares de *Larus audouinni* (23 en total) se recogieron en el muestreo de Mayo (12 – 19) del 2007 mediante trampas-nido individuales.

Respecto a la eficacia del método de trampeo, hay que decir que la red de tiro es adecuada para capturar un elevado número de ejemplares (al menos 10 en cada ocasión) pero los animales recelan los días siguientes a la captura, con lo que consideramos que es un método adecuado para usarlo, como mucho, con una periodicidad semanal. Las trampas de nido funcionaron aleatoriamente, tanto en las islas de Rey y Congreso, con cierta preferencia en la captura en las primeras horas de la mañana o últimas de la tarde. En cualquier caso, después de todo un día de espera, no se llegaron a capturar más de 6 ejemplares diarios, lo cual es un grave obstáculo para la recogida de un elevado número de animales. Como señalaba el informe parcial, se recogieron 20 huevos de cada especie a estudiar, trasladándose al IQOG (CSIC) para el análisis de organoclorados, así como muestras de sangre y plasma de al menos 20 adultos para los análisis de metales pesados y organoclorados respectivamente.

En la estación biológica de RNC Islas Chafarinas se realizaron, inmediatamente después de la captura de las aves, los análisis de hematología y bioquímica sanguínea, cuyos resultados se presentan

en este informe. Se han comparado, cuando ha sido posible, los datos obtenidos en *Larus michaellis*, en los dos muestreos realizados, ya que sí esperábamos que hubiera diferencias entre ellos, habida cuenta que el animal se encuentra en dos momentos fisiológicamente muy diferentes: antes y durante la época de cría. Aunque cada especie puede tener una hematología y bioquímica sanguínea muy diferente, se han comparado los datos de ambas especies, *Larus michaellis* y *Larus audouini* en época de cría, con el fin de intentar clarificar diferencias fisiológicas (si las hubiera) en base a su modo de alimentación, comportamiento, fenología etc.

2.- HEMATOLOGÍA

2.1. Metodología empleada

Las aves en estado salvaje son susceptibles al estrés ante la presencia del ser humano, provocando, entre otros efectos, una heterofilia. Por todo ello, la extracción de la muestra de sangre debe realizarse con anterioridad a su exploración física, minimizando el estrés del animal y el tiempo de realización. En general, la extracción de sangre se realizó por venipunción de la vena braquial derecha, con una jeringa de 5 ml y aguja heparinizada. Ya que la bibliografía al respecto (Campbell, T.W., 1988) admite que, en aves sanas, se puede obtener una muestra que suponga el 1% del peso corporal sin efectos negativos, y considerando que el peso de la gaviota patiamarilla osciló entre 800 y 1200 gramos, se intentó obtener 5 ml de sangre de cada animal. En el caso de las gaviotas de Audouin, dado su menor peso (entre 500 y 700 g) la extracción de sangre nunca superó los 4 ml. Una vez realizada la extracción, las muestras se almacenaron en una nevera de campo hasta su manipulación en el laboratorio.

Los parámetros a determinar en la hematología de las aves son el recuento total y diferencial de glóbulos blancos, recuento de glóbulos rojos, hematocrito y concentración de hemoglobina.

El hematocrito es fundamental a la hora de valorar el estado de hidratación del ave y la existencia de anemia. Se obtiene centrifugando el capilar de microhematocrito (unos 15 microlitros) a 12.000 r.p.m. durante 5 minutos y midiendo la parte que en dicho capilar se corresponde con los glóbulos rojos. Además de esta fracción, se obtendrá una franja correspondiente a los glóbulos blancos y una parte transparente y líquida correspondiente al plasma. El hematocrito se realizó en todas las muestras por duplicado, presentándose en resultados una media aritmética de ambos valores.

Uno de los métodos de fácil ejecución y de resultado fiable para valorar la concentración de hemoglobina en aves es el de la cianometahemoglobina. El análisis cuantitativo se realiza mezclando 5 ml de la solución de Drabkin (Bioanalítica S.L. SPinreact kits) con 20 µl

de sangre, y efectuando la lectura de absorción de la muestra a 540 nm de longitud de onda. A diferencia de los mamíferos será fundamental, con anterioridad a dicha lectura, centrifugar la dilución de la muestra durante 10 minutos para, posteriormente, retirar los núcleos eritrocitarios derivados de la lisis celular. Se realizaron ambas medidas (muestra centrifugada y sin centrifugar), y en resultados se dan ambos valores, con el objeto de poder comparar resultados, ya que la centrifugación de las muestras es una práctica generalizada, pero no universal de la hematología de aves.

El recuento total de glóbulos blancos y rojos se realizó manualmente, mediante cámaras de recuento hemocitométricas como la de Neubauer ya que no se pueden usar métodos automáticos por su nucleación. Se usaron pipetas especiales para recuento de glóbulos rojos (dilución 1:200) y de glóbulos blancos (dilución 1:20), usando la solución de Natt y Herrick para la dilución de la sangre. En el caso de los eritrocitos, el recuento se realiza en 80 cuadrados pequeños de la cámara, y el total se multiplica por 10.000. Para el recuento de leucocitos, tras una tinción de 15 minutos en la pipeta de dilución se contabilizan todos los que aparecen en los 16 cuadrados medianos de una parte de la cámara de Neubauer. El resultado obtenido indica el número de glóbulos rojos y blancos /microlitro de sangre.

El recuento diferencial de leucocitos se llevó a cabo mediante el estudio del frotis sanguíneo e identificación de los diferentes tipos celulares: granulocitos (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y agranulocitos (linfocitos y monolitos). El frotis se realizó en el laboratorio del RNC Islas Chafarinas, y se fijaron con metanol durante 3 minutos. La tinción según el método de MayGrunwald-Giemsa y el recuento se realizó en el laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de CC.,. Biológicas de la U.C.M.

2.2. Resultados

2.2.1. *Larus michaellis*

En la Tabla 1 aparecen reflejados los resultados correspondientes a la hematología de las aves muestreadas en Febrero del 2007, y en la Tabla 2 las correspondientes al muestreo de Abril. Como se puede apreciar, es más completo en el segundo caso, aunque se pueden establecer comparaciones, en el caso de los valores de hemoglobina y hematocrito, ya que el número de muestra es suficiente en ambos casos. Los valores son prácticamente iguales, excepto que hay un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en la cantidad de hemoglobina (valores sin centrifugar) que tienen las aves en abril con respecto a la que tienen en febrero. Por lo demás, los resultados obtenidos están dentro de los descritos para aves de este género (Wildlife Rehabilitation Database, Averbeck, C, 1992), incluso con un recuento de glóbulos rojos superiores a la media, pero éste es un

parámetro que puede variar mucho según el estado fisiológico del animal.

2.2.2. *Larus audouinii*

En la Tabla 3 aparecen los datos de hematología correspondientes a las gaviotas de Audouin muestreadas en Mayo del 2007. Al comparar las dos especies, cada una de ellas en época de cría, es decir, la gaviota patiamarilla de abril y la gaviota de Audouin de mayo, se puede apreciar una disminución en el número de glóbulos rojos y el porcentaje de hematocrito ($p < 0,01$) y un aumento en el de glóbulos blancos ($p < 0,01$). Aunque está descrito que cada especie tiene un determinado número de glóbulos rojos, número variable en función del estrés, edad, sexo, hora del día, momento del muestreo, enfermedades, estado nutricional, de hidratación etc.. (Dawson, R.D. & Bortolotti, G.R., 1997), la disminución del número de eritrocitos y el % del hematocrito podría estar asociada a una menor tasa metabólica, aunque hay datos dispares en la bibliografía a este respecto (Newman, S.H., 1999) Por otro lado, hay que puntualizar que el contenido de hemoglobina (pigmento transportador de oxígeno) fue igual en ambas especies. Los parámetros hematológicos derivados de los anteriores, es decir, el volumen corpuscular medio fue mayor ($p < 0,01$) en la gaviota de Audouin, es decir, esta especie presenta unos eritrocitos más grandes y con mayor cantidad de hemoglobina en cada eritrocito ($p < 0,01$). Igualmente, aunque el aumento en el número de glóbulos blancos se ha relacionado con la presencia de parásitos, estrés, estado nutricional... etc. (Lobato, E., et al. 2005), no podemos inferir ninguna conclusión comparando ambas especies. Estos datos servirán de referencia para futuras comparaciones intra-especies. En la Tabla 45 aparece un resumen de los parámetros hematológicos de las dos especies estudiadas.

| Num | PVC | metálica | HTO | HB | Hb centrif. | RECuento | Re.g.blanco | VCM | HCM | CCMH |
|-----|-----|----------|-------|-------|----------------|----------|-------------|--------|-------|-------|
| 1 | | 7097901 | 41 | 15 | 11,25 | 3,73 | | 109,92 | 30,16 | 27,44 |
| 2 | 360 | 7097902 | 38,5 | 14,74 | 11,055 | 3,39 | | 113,57 | 32,61 | 28,71 |
| 3 | 361 | 7097904 | 38,6 | 16,28 | 12,21 | | | | | 31,63 |
| 4 | 362 | 7097903 | 41,1 | 12,68 | 9,51 | 3,45 | | 119,13 | 27,57 | 23,14 |
| 5 | 363 | 7097905 | 39 | 12,17 | 9,13 | | | | | 23,40 |
| 6 | 364 | 7097906 | 39,1 | 14,27 | 10,70 | | | | | 27,37 |
| 7 | 365 | 7097907 | 37 | 12,29 | 9,22 | | | | | 24,91 |
| 8 | 366 | 7097908 | 40 | 13,93 | 10,45 | | | | | 26,12 |
| 9 | 367 | 7097909 | 36 | 14,27 | 10,70 | | | | | 29,73 |
| 10 | 368 | 7097910 | 42,8 | 11,39 | 8,54 | | | | | 19,96 |
| 11 | 369 | 7097911 | 40 | 11,91 | 8,93 | | | | | 22,33 |
| 12 | 36A | 7097912 | 45,7 | 15,44 | 11,58 | | | | | 25,34 |
| 13 | 36C | 7097913 | 42,5 | 12,72 | 9,54 | | | | | 22,45 |
| 14 | 36F | 7097914 | 43,21 | 12,09 | 9,07 | | | | | 20,98 |
| 15 | 36H | 7097915 | 40,65 | 14,05 | 10,54 | 3,38 | | 120,27 | 31,18 | 25,92 |
| 16 | 36J | 7097916 | 45,85 | 15,48 | 11,61 | 3,58 | | 128,07 | 32,43 | 25,32 |
| 17 | 36L | 7097917 | 42,97 | 14,08 | 10,56 | 3,35 | | 128,27 | 31,52 | 24,58 |
| 18 | 36M | 7097918 | 43,32 | 14,56 | 10,92 | | | | | 25,21 |
| 19 | 36N | 7097919 | 45,13 | 14,19 | 10,64 | 3,82 | | 118,14 | 27,86 | 23,58 |
| 20 | 36P | 7097920 | 41,16 | 13,97 | 10,48 | 4,01 | | 102,64 | 26,13 | 25,46 |
| 21 | 36R | 7097921 | 43,26 | 15,11 | 11,33 | | | | | 26,20 |
| 22 | 36T | 7097922 | 43,04 | 14,96 | 11,22 | 3,92 | | 109,80 | 28,62 | 26,07 |
| 23 | 36U | 7097923 | 41,78 | 13,09 | 9,82 | | | | | |

**TABLA 1. PARAMETROS HEMATOLÓGICOS EN LARUS
MICHAELLIS. FEBRERO 2007**

| Num | PVC | Metálica | Hto % | Hb sin | Hb centri | Recuento | R.g.blanco | VCM | HCM | CCMH |
|-----|-----|----------|-------|--------|-----------|----------|------------|--------|-------|-------|
| 1 | 36X | 7078999 | 44,45 | 16,77 | 12,98 | 2,60 | 1,48E+04 | 170,96 | 49,92 | 29,20 |
| 3 | 36V | 7079000 | 43,01 | 14,45 | 13,2 | 3,44 | 1,24E+04 | 125,03 | 38,37 | 30,69 |
| 5 | 36W | 7098451 | 39,58 | 16,95 | 12,91 | 4,22 | 1,29E+04 | 93,791 | 30,59 | 32,62 |
| 7 | 35X | 7098452 | 40,9 | 14,67 | 12,13 | 4,07 | 1,00E+04 | 100,49 | 29,80 | 29,66 |
| 9 | 35W | 7098453 | 40,24 | 11,66 | 9,52 | 4,00 | 1,13E+04 | 100,6 | 23,80 | 23,66 |
| 11 | 35V | 7078940 | 38,19 | 15,44 | 12,54 | 3,59 | 9,10E+03 | 106,38 | 34,93 | 32,84 |
| 13 | 35U | 7098454 | 44,68 | 16,33 | 11,91 | 3,97 | 9,10E+03 | 112,54 | 30,00 | 26,66 |
| 15 | 35T | 7098455 | 37,84 | 19,05 | 15,48 | 4,06 | 9,90E+03 | 93,202 | 38,13 | 40,91 |
| 17 | 35R | 7098456 | 47,37 | 17,36 | 12,91 | 3,49 | 9,60E+03 | 135,73 | 36,99 | 27,25 |
| 19 | 37O | 7098470 | 44,09 | 23,39 | 9,38 | 3,43 | 8,50E+03 | 128,54 | 27,35 | 21,27 |
| 2 | 353 | 7098471 | 46,17 | 16,36 | 12,39 | 4,14 | 1,01E+04 | 111,52 | 29,93 | 26,84 |
| 21 | 371 | 7098457 | 44,76 | 17,83 | 8,94 | 3,37 | 9,00E+03 | 132,82 | 26,53 | 19,97 |
| 23 | 372 | 7098458 | 43,25 | 17,69 | 10,3 | 4,13 | 1,43E+04 | 104,72 | 24,94 | 23,82 |
| 25 | 373 | 7098459 | 45,06 | 16,58 | 11,33 | 3,35 | 1,02E+04 | 134,51 | 33,82 | 25,14 |
| 27 | 374 | 7098460 | 41,77 | 16,4 | 9,49 | 4,18 | 1,74E+04 | 99,928 | 22,70 | 22,72 |
| 29 | 375 | 7098461 | 39,61 | 14,27 | 10,44 | 2,63 | 1,18E+04 | 150,61 | 39,70 | 26,36 |
| 33 | 377 | 7098463 | 38,99 | 12,98 | 8,71 | 2,60 | 1,24E+04 | 149,96 | 33,50 | 22,34 |
| 4 | 355 | 7098472 | 39,72 | 13,09 | 11,95 | 3,11 | 9,60E+03 | 127,72 | 38,42 | 30,09 |
| 6 | 356 | 7098473 | 45,75 | 14,16 | 12,65 | 3,63 | 9,60E+03 | 126,03 | 34,85 | 27,65 |
| 8 | 357 | 7098474 | 42,8 | 14,19 | 11,77 | 2,73 | 9,00E+03 | 156,78 | 43,11 | 27,50 |
| 10 | 358 | 7098475 | 41,66 | 14,34 | 12,43 | 3,43 | 7,40E+03 | 121,46 | 36,24 | 29,84 |
| 12 | 359 | 7098476 | 44,76 | 15,48 | 13,24 | 3,76 | 1,00E+04 | 119,04 | 35,21 | 29,58 |
| 35 | 378 | 7098464 | 38,92 | 8,68 | 6,32 | 3,85 | 9,80E+03 | 101,09 | 16,42 | 16,24 |
| 37 | 379 | 7098465 | 43,71 | 13,49 | 8,46 | 4,02 | 8,60E+03 | 108,73 | 21,04 | 19,35 |
| 39 | 37A | 7098466 | 44,29 | 13,38 | 9,74 | 3,77 | 1,18E+04 | 117,48 | 25,84 | 21,99 |
| 41 | 37C | 7098467 | 47,03 | 15,04 | 10,7 | 3,36 | 1,10E+04 | 139,97 | 31,85 | 22,75 |
| 43 | 37F | 7098468 | 40,35 | 12,39 | 7,94 | 4,07 | 7,40E+03 | 99,14 | 19,51 | 19,68 |
| 45 | 37H | 7098469 | 30,49 | 12,17 | 9,71 | 3,57 | 9,60E+03 | 85,406 | 27,20 | 31,85 |

TABLA 2. PARAMETROS HEMATOLOGICOS EN LARUS MICHAHELLIS. ABRIL 2007

| AUDOUIN | METALICA | RECUENTO | Globulos BLANCOS | HB SIN | HB centrif. | HTO | VCM | HCM | CCMH | |
|---------|----------|----------|---------------------|-----------|----------------|-------|--------|-------|-------|--|
| 1 | 6163601 | 3,334 | 13.800 | 13,53 | 10,22 | 45,03 | 135,06 | 30,65 | 22,70 | |
| 2 | 6085561 | 2,55 | 30.700 | 12,13 | 10,99 | 29,54 | 115,84 | 43,10 | 37,20 | |
| 3 | 6088118 | | 6.900 | 13,75 | 8,79 | 27,02 | | | 32,53 | |
| 4 | 6163602 | 3,36 | 13.300 | 14,49 | 9,3 | 34,14 | 101,61 | 27,68 | 27,24 | |
| 5 | 6163603 | 3,66 | 12.700 | 15,15 | 12,1 | 42,25 | 115,44 | 33,06 | 28,64 | |
| 6 | 6163604 | 2,65 | 15.000 | 21,07 | 11,36 | 45,67 | 172,34 | 42,87 | 24,87 | |
| 7 | 6163605 | 3,21 | 10.500 | 13,75 | 10,19 | 45,14 | 140,62 | 31,74 | 22,57 | |
| 8 | 6163606 | 2,76 | 8.800 | 17,72 | 10,44 | 43,52 | 157,68 | 37,83 | 23,99 | |
| 9 | 6163607 | 3,17 | 10.300 | 11,95 | 8,86 | 37,64 | 118,74 | 27,95 | 23,54 | |
| 10 | 6163608 | 2,93 | 14.100 | 15,55 | 12,47 | 40 | 136,52 | 42,56 | 31,18 | |
| 11 | 6063172 | 2,84 | 12.900 | 12,87 | 10,63 | 37,19 | 130,95 | 37,43 | 28,58 | |
| 12 | 6163609 | 2,82 | 12.700 | 16,4 | 11,07 | 40,36 | 143,12 | 39,26 | 27,43 | |
| 13 | 6032379 | 3,41 | 8.700 | 18,13 | 8,94 | 41,24 | 120,94 | 26,22 | 21,68 | |
| 14 | 6163610 | 1,79 | 7.700 | 18,42 | 14,81 | 40,61 | 226,87 | 82,74 | 36,47 | |
| 15 | 6163611 | 2,48 | 12.500 | 16,1 | 13,35 | 32,14 | 129,60 | 53,83 | 41,54 | |
| 16 | 6163612 | 2,29 | 11.600 | 16,03 | 13,24 | 41,84 | 182,71 | 57,82 | 31,64 | |
| 17 | 6163613 | 2,39 | 14.800 | 16,54 | 13,42 | 40,34 | 168,79 | 56,15 | 33,27 | |
| 18 | 6163614 | 2,31 | 19.900 | 12,98 | 10,7 | 36,55 | 158,23 | 46,32 | 29,27 | |
| 19 | 6163615 | 2,47 | 21.400 | 12,28 | 8,2 | 36,18 | 146,48 | 33,20 | 22,66 | |
| 20 | 6163616 | 2,89 | 16.000 | 13,2 | 8,35 | 38,75 | 134,08 | 28,89 | 21,55 | |
| 21 | 6163617 | 2,68 | 11.600 | 15,37 | 12,43 | 43,4 | 161,94 | 46,38 | 28,64 | |
| 22 | 6163618 | 2,32 | 25.000 | 11,18 | 8,24 | 36,45 | 157,11 | 35,52 | 22,61 | |
| 23 | 6163619 | 4,17 | 9.800 | 14,52 | 8,2 | 39,88 | 95,64 | 19,66 | 20,56 | |

**TABLA 3. PARAMETROS HEMATOLÓGICOS EN LARUS
AUDOUINII. MAYO 2007**

| | <i>Larus michahellis</i> Febrero 2007 | <i>Larus michahellis</i> Abril 2007 | <i>Larus audouinii</i> Mayo 2007 |
|---|--|--|-------------------------------------|
| Hematocrito (%) | 41,38 ± 2,63 | 42,12 ± 3,58 | 38,91 ± 4,86 **↓ |
| Recuento Eritrocitos (10 ⁶) | 3,63 ± 0,25 | 3,59 ± 0,50 | 2,84 ± 0,54 **↓ |
| Recuento g. blancos | --- | 10.600 ± 2.254 | 13.943 ± 5.651 **↑ |
| Hemoglobina (g/100 ml) | 10,39 ± 0,992 | 11,05 ± 2,04 | 10,71 ± 1,95 |
| Volumen corpuscular medio (fL) | 116,65 ± 8,55 | 119,79 ± 21,29 | 143,20 ± 29,44 **↑ |
| Hemoglobina Corpuscular Media (pg) | 29,79 ± 2,33 | 31,45 ± 7,55 | 40,04 ± 13,81 **↑ |
| CCMH | 25,27 ± 2,75 | 26,37 ± 5,24 | 27,84 ± 5,69 |

TABLA 4 .- COMPARACIÓN MEDIANTE T DE STUDENT (** p < 0,01) ENTRE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES MUESTREOS DE LAS DOS ESPECIES (SE EXPRESAN COMO MEDIA ± DESVIACIÓN ESTANDAR)

3.- BIOQUIMICA SANGUINEA

3.1. Metodología empleada

Las determinaciones bioquímicas se llevaron a cabo en el plasma, obtenido por centrifugación inmediata de la sangre a 10.000 r.p.m. durante 10 minutos una vez llegados al laboratorio. Se hicieron 3 tipos de determinaciones en las gaviotas de ambas especies: parámetros generales, donde se cuantificaron los niveles de albúmina, proteínas totales, glucosa, triglicéridos, fosfolípidos, colesterol y ácido úrico; minerales plasmáticos (zinc, calcio, fósforo, magnesio y hierro) y actividades enzimáticas, valorándose la actividad de la fosfatasa alcalina, GOT, GPT y creatina kinasa.

Parámetros básicos

- La albúmina se cuantificó mediante el test colorimétrico del bromocresol, basado en que la albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH 4,2 produciéndose un cambio de color del indicador, variación que se mide en el espectrofotómetro a 630 nm, comparándolo con una solución patrón de albúmina de 5 g/dL.
- El método más exacto y simple para la determinación de proteínas totales en plasma es el test colorimétrico Biuret, basado en que los grupos $-CO-NH-$ unidos entre sí dan una reacción con las sales cúpricas en medio alcalino, produciéndose un color violeta, cuya absorbancia a 540 nm es proporcional a la concentración. El resultado se compara con la absorbancia de un estándar (7g/dL).
- La glucosa se cuantificó mediante el test enzimático-colorimétrico GOD-PAP, basado en que la glucosa oxidasa cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, el cual se valora mediante la reacción de Trinder, dando lugar a una quinona coloreada proporcionalmente a la concentración de glucosa. La densidad óptica de la muestra a 505 nm se compara con el estándar de glucosa (100 mg/dl).
- El ácido úrico se cuantificó mediante el test enzimático-colorimétrico uricasa-PAP, cuyo fundamento es que el ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoina y peróxido de hidrógeno que, en presencia de peroxidasa, ascorbato oxidasa, 4-aminofenazona y DCPS forma un compuesto rosáceo, cuya absorción a 520 nm se compara con la de un estándar de ácido úrico de 6 mg/dL.

- El colesterol se valoró mediante el test enzimático colorimétrico CHOD-PAP, basado en que la colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol presentes en la muestra dando colesterol libre y ácidos grasos. Una posterior oxidación enzimática mediante la colesterol oxidasa producirá colesteroína y peróxido de hidrógeno. Este último se valora por la reacción de Trinder mediante un cromógeno, fenol y 4-aminoantipirina en presencia de peroxidasa, formando una quinonimina cuya absorbancia a 505 se compara con la del estándar (200 mg/dL).
- Los fosfolípidos plasmáticos se valoraron mediante el test enzimático colorimétrico de Trinder, cuyo fundamento es que estos compuestos son hidrolizados por la fosfolipasa para dar colina + ácido fosfatídico. La colina se oxida por medio de la colina oxidasa para dar betaína y peróxido de hidrógeno, cuya producción se valora, como en el caso anterior por Trinder, frente a un estándar de 300 mg/dL.
- Los triglicéridos se cuantificaron mediante el test enzimático-colorimétrico GPO-PAP, basado en la hidrólisis enzimática de los triglicéridos a glicerol, el cual, mediante la acción de la glicerol quinasa y glicerol-P-oxidasa, libera el peróxido de hidrógeno que se valora por la reacción de Trinder mediante un cromógeno, p-clorofenol y 4-AF, comparando la absorbancia de la muestra a 505 nm con un estándar de 200 mg/dL.

Elementos minerales del plasma

- El calcio plasmático se cuantificó mediante un método colorimétrico, cuyo fundamento es que este catión con la cresolftaleína forma un complejo alcalino cuyo intensidad de color, medida a 520 nm se compara con una solución patrón de calcio de 10 mg/dL.
- El hierro se valoró mediante un test colorimétrico sin desproteinización (TPTZ), basado en que, en medio ácido el hierro es liberado de la transferrina y se reduce a hierro ferroso mediante ácido ascórbico. El hierro reacciona con la tripiridil-triazina formando un compuesto azulado cuya absorbancia a 595 nm se compara con una estándar de hierro de 100 µg/dL.
- El magnesio en medio alcalino forma un complejo de color púrpura al reaccionar con la calmadita. La densidad óptica a 520 nm es proporcional a la concentración de la muestra. El estándar de referencia es 2 mg/dL.

- El fósforo se cuantificó mediante un método colorimétrico que permite la valoración del fósforo inorgánico sin desproteinización del suero. Se basa en que el fósforo reacciona con molibdato sódico, formando fosfomolibdato que por reducción con 1,2-fenilendiamina forma un compuesto azul cuya absorbancia a 710 nm se compara con un estándar de P de 5 mg/dL.
- En medio alcalino el Zinc reacciona con el agente acomplejante 5-Br-PAPS formando un complejo cuya intensidad de color a 560 nm es proporcional a la cantidad de zinc contenido en la muestra. Se usa un estándar de zinc de 200 µg/dL para realizar los cálculos.

Enzimas

- La determinación cinética de la actividad de la creatin kinasa se realizó después de la activación mediante N-acetil-cisteína, de acuerdo a las siguientes reacciones:

$$\text{Creatin fosfato} + \text{ADP} \xrightarrow{\text{CK}} \text{creatina} + \text{ATP}$$

$$\text{ATP} + \text{glucosa} \xrightarrow{\text{HK}} \text{glucosa-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{Glucosa -6-P} + \text{NADP} \xrightarrow{\text{G-6P-DH}} \text{gluconato 6P} + \text{NADPH} + \text{H}$$
- La actividad de la fosfatasa alcalina se realizó mediante un test cinético optimizado, basado en que esta enzima hidroliza los ésteres de ácido fosfórico en medio alcalino, produciendo p-nitrofenol a partir de p-nitrofenilfosfato. El producto es un compuesto coloreado, cuya absorbancia a 405 nm es proporcional a la concentración.
- Para la determinación de GOT y GPT se usó un método colorimétrico, basado en que las transaminasas catalizan la transferencia del grupo amino del aspartato (GOT) o de la alanina (GPT) al α -cetoglutarato. El cetoácido formado, oxalacético o pirúvico, respectivamente, en presencia de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNFH) da la hidrazona correspondiente con una coloración medible a 505 nm en medio alcalino.

3.2. Resultados

3.2.1. Bioquímica sanguínea en *Larus michaellis*

- En la Tabla 5 aparecen los datos correspondientes a los parámetros básicos de bioquímica sanguínea correspondientes al muestreo de Febrero y en la tabla 6 los correspondientes al muestreo de Abril del 2007. Como se puede apreciar, hay diferencias estadísticamente significativas al comparar algunos

parámetros. El estudio de las proteínas plasmáticas proporciona una importante información acerca del estado fisiológico del ave. Aunque la cantidad de albúmina se mantiene constante en ambos muestreos, la cantidad de proteínas plasmáticas es superior en el plasma de las gaviotas muestreadas en Abril que en las muestreadas en Febrero ($p < 0,01$). Esta situación ya ha sido descrita en la bibliografía (Lumeij, J.T, 1996) y se interpreta como un aumento de la síntesis hepática de proteínas durante el período de puesta para la producción del albumen del huevo. Los niveles de ácido úrico, que en aves representa el 60-80% del total del nitrógeno excretado, son muy cambiantes en ambos muestreos, con lo que no se puede establecer ninguna conclusión, pero podemos apreciar una disminución de los niveles de colesterol ($p < 001$), fosfolípidos ($p < 0,01$) y triglicéridos (ésta última no fue estadísticamente significativa) en las gaviotas capturadas en abril. Aunque estos parámetros tienen escaso valor diagnóstico, ya que son muy cambiantes, su disminución puede deberse a una dieta baja en grasa, a una menor disponibilidad de alimento (bastante raro) o más probablemente al estrés fisiológico debido a la puesta.

| Num | PVC | metálica. | Albúmina | Proteínas | A/P | GLUCOSA | TRIGLICER | FOSFOLIPI | Colesterol | URICO |
|-----|-----|-----------|----------|-----------|-------|---------|-----------|-----------|------------|-------|
| 1 | | 7097901 | 1,805 | 2,503 | 0,721 | | 56,15 | 462,6 | 242,28 | 7,46 |
| 2 | 360 | 7097902 | 2,012 | 1,962 | | | 45,38 | 466,8 | 300,71 | 6,68 |
| 3 | 361 | 7097904 | 1,621 | 2,256 | 0,719 | | 47,69 | 507,6 | 231,83 | 2,9 |
| 4 | 362 | 7097903 | 1,905 | 2,163 | 0,881 | | 41,54 | 547,8 | 271,26 | 3,78 |
| 5 | 363 | 7097905 | 1,887 | 2,874 | 0,657 | | 65,38 | 542,4 | 295,96 | 3,55 |
| 6 | 364 | 7097906 | 2,071 | 2,472 | 0,838 | | 98,11 | 522,83 | 262,89 | 7,71 |
| 7 | 365 | 7097907 | 2,166 | 3,801 | 0,570 | | 64,9 | 451,09 | 277,64 | 4,66 |
| 8 | 366 | 7097908 | 1,899 | 2,982 | 0,637 | | 87,69 | 595,8 | 328,27 | 4,03 |
| 9 | 367 | 7097909 | 1,485 | 2,318 | 0,641 | | 64,9 | 446,74 | 228,99 | 1,48 |
| 10 | 368 | 7097910 | 1,805 | 2,951 | 0,612 | | 64,9 | 410,87 | 236,85 | 5,49 |
| 11 | 369 | 7097911 | 1,84 | 2,673 | 0,688 | | 58,11 | 489,67 | 293,37 | 2,89 |
| 12 | 36A | 7097912 | 1,947 | 3,307 | 0,589 | | 64,61 | 640,2 | 299,29 | 2,65 |
| 13 | 36C | 7097913 | 1,515 | 1,932 | 0,784 | | 87,55 | 513,59 | 283,05 | 2,18 |
| 14 | 36F | 7097914 | 1,67 | 3,659 | 0,456 | | | | | |
| 15 | 36H | 7097915 | 1,753 | 3,253 | 0,539 | | 87,55 | 516,26 | 287,22 | 5,51 |
| 16 | 36J | 7097916 | 1,695 | 3,122 | 0,543 | | 67,37 | 557,14 | 172,78 | 10,61 |
| 17 | 36L | 7097917 | 1,899 | 3,178 | 0,598 | | 90,57 | 655,38 | 223,33 | 16,72 |
| 18 | 36M | 7097918 | 1,719 | 3,398 | 0,506 | | 127,55 | 536,96 | 272,73 | 3,33 |
| 19 | 36N | 7097919 | 2,169 | 4,386 | 0,495 | | 71,7 | 738,46 | 533,33 | 14,04 |
| 20 | 36P | 7097920 | 1,616 | 2,919 | 0,554 | | 87,55 | 596,7 | 372,22 | 4,51 |
| 21 | 36R | 7097921 | 1,653 | 3,064 | 0,539 | | 88,3 | 685,71 | 376,11 | 4,61 |
| 22 | 36T | 7097922 | 2,007 | 3,384 | 0,593 | | 298,11 | 969,23 | 565,55 | 2,44 |
| 23 | 36U | 7097923 | 1,821 | 3,398 | 0,536 | | 89,42 | 698,9 | 394,44 | 3,37 |

Tabla 5.- Parámetros generales de bioquímica sanguínea en *Larus michaellis*. Febrero 2007.

| Num | PVC | Metálica | Albúmina | Proteínas | A/P | Glucosa | TRIGLICERI | Fosfolipid | Colesterol | ÚRICO |
|-----|-----|----------|----------|-----------|-------|---------|------------|------------|------------|-------|
| 1 | 36X | 7078999 | 1,84 | 4,51 | 0,408 | 223,71 | 130,92 | 301,76 | 202,4 | 7,75 |
| 3 | 36V | 7079000 | 1,71 | 3,99 | 0,429 | 190,57 | 62,95 | 194,7 | 224 | 9,61 |
| 5 | 36W | 7098451 | 1,47 | 3,85 | 0,382 | 342,57 | 71,31 | 225,29 | 200,4 | 9,33 |
| 7 | 35X | 7098452 | 1,64 | 4,29 | 0,382 | 200,28 | 104,18 | 219,41 | 237,2 | 5,49 |
| 9 | 35W | 7098453 | 1,53 | 3,58 | 0,427 | 359,43 | 48,47 | 234,12 | 180,8 | 7,19 |
| 11 | 35V | 7078940 | 1,3 | 4,83 | 0,269 | 248,28 | 42,89 | 171,76 | 201,2 | 5,77 |
| 13 | 35U | 7098454 | 1,72 | 4,87 | 0,353 | 282,86 | 59,61 | 266,47 | 237,6 | 4,47 |
| 15 | 35T | 7098455 | 1,23 | 3,89 | 0,316 | 315,14 | 33,98 | 235,29 | 202,8 | 0,58 |
| 17 | 35R | 7098456 | 1,46 | 4,22 | 0,346 | 338,86 | 75,21 | 225,29 | 254,4 | 3,51 |
| 19 | 37O | 7098470 | 1,68 | 3,47 | 0,484 | 289,43 | 88,58 | 278,82 | 252,8 | 3,86 |
| 2 | 353 | 7098471 | 1,62 | 3,71 | 0,437 | 264,58 | 44,57 | 385,56 | 225,6 | 10,27 |
| 21 | 371 | 7098457 | 2,13 | 4,04 | 0,527 | 296,73 | 108,08 | 346,77 | 216 | 11,47 |
| 23 | 372 | 7098458 | 1,94 | 3,21 | 0,604 | 220,98 | 32,87 | 246,39 | 172 | 5,41 |
| 25 | 373 | 7098459 | 1,79 | 4,42 | 0,405 | 338,15 | 65,18 | 303,99 | 221,2 | 3,99 |
| 27 | 374 | 7098460 | 1,55 | 3,36 | 0,461 | 336,14 | 55,15 | 337,64 | 180,4 | 6,17 |
| 29 | 375 | 7098461 | | | | | 85,24 | | | |
| 33 | 377 | 7098463 | 1,83 | 6,6 | 0,277 | 348,94 | 101,95 | 509,67 | 279,6 | 16,63 |
| 8 | 357 | 7098474 | 2,42 | | | 240,96 | 101,39 | 491,44 | 192,8 | 6,21 |
| 12 | 359 | 7098476 | 1,64 | 3,11 | 0,527 | 278,19 | 96,38 | 548,62 | 257,6 | 8,79 |
| 35 | 378 | 7098464 | 1,58 | 4,02 | 0,393 | 106,35 | 76,07 | | 223,86 | 6,87 |
| 37 | 379 | 7098465 | 2,98 | 4,23 | 0,704 | 156,35 | 141,1 | | 245,12 | 7,98 |
| 39 | 37A | 7098466 | 2,28 | 4,04 | 0,564 | 129,37 | 47,85 | | 230,8 | 4,56 |
| 41 | 37C | 7098467 | 1,86 | 4,12 | 0,451 | 160,52 | 33,74 | | 304,55 | 10,07 |
| 43 | 37F | 7098468 | 2,63 | 3,79 | 0,694 | 148,02 | 110,43 | | 259,87 | 3,58 |
| 45 | 37H | 7098469 | 1,27 | 4,33 | 0,293 | 146,63 | | | | |

Tabla 6.- Parámetros generales de bioquímica sanguínea en *Larus michaellis*. Abril 2007.

3.2.2. Bioquímica sanguínea en *Larus audouinii*

Los datos correspondientes a los parámetros generales de bioquímica sanguínea de la gaviota de Audouin se presentan en la Tabla 7. Como se puede apreciar, no hay diferencias entre ambas especies durante el período de puesta, en lo que se refiere a los niveles de albúmina y proteínas plasmáticas. Si se puede detectar un aumento estadísticamente significativo en los triglicéridos plasmáticos (son prácticamente el doble que los de la gaviota patiamarilla, $p < 0,01$), de un 33% en fosfolípidos ($p < 0,01$) y de un 11% en la cantidad de colesterol plasmático ($p < 0,05$). Estos resultados no son de extrañar, habida cuenta de la dieta de la gaviota de Audouin, basada, según la bibliografía, casi exclusivamente en pescado (Oro, D, 1998). Por último, cabe destacar que la gaviota de Audouin presenta unos niveles de glucosa plasmática inferiores a los de la patiamarilla, aunque ambos son bastante elevados, y dentro del rango descrito para otras especies del género *Larus*. (Averbeck, C., 1992) (Tabla 8)

| Metálica | Albúmina | Proteínas | A/P | Glucosa | Colesterol | Triglicer. | Fosfolip | A.úrico |
|----------|----------|-----------|-------|---------|------------|------------|----------|---------|
| 6163601 | 2,04 | 6,66 | 0,306 | 121,19 | 229,93 | 88,34 | 395,26 | 5,65 |
| 6085561 | 2,27 | 6,47 | 0,351 | 195,74 | 243,48 | 96,77 | 337,5 | 12,86 |
| 6088118 | 0,79 | 3,72 | 0,212 | 137,93 | | | | 9,47 |
| 6163602 | 2,17 | 5,29 | 0,410 | 184,99 | 289,67 | 123,39 | 388,1 | 5,74 |
| 6163603 | 2,35 | 4,93 | 0,477 | 147,26 | 285,87 | 83,87 | 439,88 | 6,14 |
| 6163604 | 1,76 | 4,27 | 0,412 | 165,92 | | | | |
| 6163605 | 2,11 | 5,98 | 0,353 | 180,32 | | | | 8,1 |
| 6163606 | 2,25 | 5,16 | 0,436 | 150,1 | 347,83 | 102,42 | 444,05 | 4,08 |
| 6163607 | 2,33 | 5,82 | 0,400 | 152,74 | 367,93 | 292,74 | 516,07 | 11,02 |
| 6163608 | 1,8 | 4,6 | 0,391 | 241,59 | 253,33 | 201,92 | 398,38 | 18,36 |
| 6063172 | 2,12 | 3,67 | 0,578 | 206,73 | 188,01 | 88,18 | 330,36 | 17,39 |
| 6163609 | | | | | | | | |
| 6032379 | 1,94 | 3,02 | 0,642 | 187,74 | 217,78 | 70,93 | 346,76 | 7,33 |
| 6163610 | 2,7 | 3,37 | 0,801 | 218,03 | 258,67 | 105,43 | 381,38 | 5,92 |
| 6163611 | | | | | | | | |
| 6163612 | 2,74 | 2,84 | 0,965 | 213,94 | 248,01 | 124,6 | 422,67 | 13,92 |
| 6163613 | 2,07 | 3,34 | 0,620 | 191,11 | | | | 6,93 |
| 6163614 | 1,79 | 2,95 | 0,607 | 231,25 | | | | 5,01 |
| 6163615 | 1,72 | 5,43 | 0,317 | 177,4 | 330,02 | 497,43 | 453,95 | 17,16 |
| 6163616 | 1,26 | 3,44 | 0,366 | 220,43 | 168,19 | 172,16 | 333,74 | 8,01 |
| 6163617 | 1,98 | 2,91 | 0,680 | 196,87 | 231,81 | 270,33 | 433,92 | 16,56 |
| 6163618 | 1,1 | 3,44 | 0,320 | 201,44 | 204,77 | 117,22 | 346,92 | 14,25 |
| 6163619 | 1,24 | 3,49 | 0,355 | 167,79 | 192,44 | 79,85 | 346,4 | 3,51 |

Tabla 7.- Parámetros generales de bioquímica sanguínea en *Larus audouini*. Mayo 2007.

| | <i>Larus michaellis</i> Febrero 2007 | <i>Larus michaellis</i> Abril 2007 | <i>Larus audouini</i> Mayo 2007 |
|--------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|
| Albúmina (g/dL) | 1,82 ± 0,19 | 1,87 ± 0,46 | 1,93 ± 0,50 |
| Proteínas (g/dL) | 2,95 ± 0,61 | 4,23 ± 0,78 ** ↑ | 4,32 ± 1,25 |
| A/P | 0,62 ± 0,11 | 0,41 ± 0,09** ↓ | 0,47 ± 0,19 |
| Glucosa (mg/dL) | ---- | 244,14 ± 77,12 | 185,26 ± 31,84**↓ |
| Triglicéridos (mg/dL) | 84,32 ± 51,82 | 79,24 ± 28,12 | 157,22 ± 112,72**↑ |
| Fosfolípidos (mg/dL) | 570,58 ± 125,23 | 306,83 ± 111,33**↓ | 394,71 ± 53,74 **↑ |
| Colesterol (mg/dL) | 306,82 ± 94,54 | 226,22 ± 33,03**↓ | 253,61 ± 57,93*↑ |
| Acido úrico (mg/dL) | 5,48 ± 3,87 | 6,75 ± 3,36 | 9,87 ± 4,90 **↑ |

TABLA 8.- COMPARACIÓN MEDIANTE T DE STUDENT ENTRE LOS VALORES OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES MUESTREOS DE LAS DOS ESPECIES (SE EXPRESAN COMO MEDIA ± DESVIACIÓN ESTANDAR)

- *p < 0,05, ** p < 0,01 ↑↓ Comparación entre el muestreo de Febrero y Abril de *L. michaellis*
- *p < 0,05, ** p < 0,01 ↑↓ Comparación entre *L. michaellis* y *L. audouini* en época de cría

3.2.3. Minerales plasmáticos en *Larus michahellis*

- Los minerales plasmáticos analizados en la gaviota patiamarilla se muestran en las Tablas 9 (Febrero) y Tabla 10 (Abril 2007). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido plasmático de zinc, magnesio y hierro entre ambos muestreos, pero se puede apreciar un aumento estadísticamente significativo en el contenido plasmático de calcio ($p < 0,001$) y de fósforo ($p < 0,05$) de las gaviotas en período reproductor, hecho ya referido en la bibliografía, y relacionado con la movilización de fosfato cálcico de los huesos para la deposición de la cáscara de los huevos. (Lumeij, J.T., 1996)

| | Num | PVC | metálica. | Zn | Ca | Mg | Fe | P |
|--|-----|-----|-----------|----|------|-------|--------|------|
| | 1 | | 7097901 | | 7,99 | 4,80 | 63,27 | 1,47 |
| | 2 | 360 | 7097902 | | 8,84 | 3,31 | 87,34 | 0,98 |
| | 3 | 361 | 7097904 | | 8,83 | 1,97 | 81,42 | 0,7 |
| | 4 | 362 | 7097903 | | 9,52 | 2,58 | 112,23 | 1,65 |
| | 5 | 363 | 7097905 | | 8,58 | 2,45 | 75,6 | 1,34 |
| | 6 | 364 | 7097906 | | 9,10 | 1,87 | 134,48 | 1,07 |
| | 7 | 365 | 7097907 | | 8,83 | 2,78 | 96,55 | 0,64 |
| | 8 | 366 | 7097908 | | 7,89 | 2,51 | 101,35 | 1,98 |
| | 9 | 367 | 7097909 | | 8,34 | 2,36 | 75,86 | 0,68 |
| | 10 | 368 | 7097910 | | 8,71 | 2,45 | 72,41 | |
| | 11 | 369 | 7097911 | | 7,72 | 3,25 | 120,69 | 0,69 |
| | 12 | 36A | 7097912 | | 9,16 | 2,03 | 83,24 | 1,27 |
| | 13 | 36C | 7097913 | | 7,72 | 2,33 | 134,48 | 0,99 |
| | 14 | 36F | 7097914 | | 7,03 | 1,56 | | |
| | 15 | 36H | 7097915 | | 6,58 | 2,49 | 156,6 | 1,92 |
| | 16 | 36J | 7097916 | | 6,95 | 1,34 | 183,02 | 1,9 |
| | 17 | 36L | 7097917 | | 6,34 | 2,03 | 147,17 | 3,03 |
| | 18 | 36M | 7097918 | | 7,18 | 2,18 | | 2,87 |
| | 19 | 36N | 7097919 | | 7,41 | 1,67 | 111,32 | 2,19 |
| | 20 | 36P | 7097920 | | 6,40 | 2,43 | 71,7 | |
| | 21 | 36R | 7097921 | | 6,56 | 3,21 | 116,98 | |
| | 22 | 36T | 7097922 | | 9,50 | 3,21 | 79,24 | |
| | 23 | 36U | 7097923 | | 6,68 | 2,064 | 52,83 | |

Tabla 9.- Minerales plasmáticos en *Larus michaellis*. Febrero 2007

| | Num | PVC | Metáli | Zn | Ca | Mg | Fe | P |
|--|-----|-----|---------|-------|------|------|-----|------|
| | 1 | 36X | 7078999 | | 9,08 | | 120 | 3,99 |
| | 3 | 36V | 7079000 | 178,5 | 8,07 | 2,88 | 44 | 2,12 |
| | 5 | 36W | 7098451 | 162,2 | 9,55 | 2,87 | 64 | 1,49 |
| | 7 | 35X | 7098452 | 199,4 | 9,02 | 1,8 | 28 | 1,54 |
| | 9 | 35W | 7098453 | 188,7 | 8,57 | 3,38 | 40 | 1,14 |
| | 11 | 35V | 7078940 | 163,3 | 8,77 | 2,31 | 176 | 0,93 |
| | 13 | 35U | 7098454 | 190,4 | 8,55 | 1,25 | 132 | 1,57 |
| | 15 | 35T | 7098455 | 207,9 | 9,85 | 1,04 | 88 | 1,01 |
| | 17 | 35R | 7098456 | 154,8 | 9,43 | 1,79 | 208 | 1,58 |
| | 19 | 37O | 7098470 | 180,8 | 9,03 | 3,24 | 76 | 4,1 |
| | 2 | 353 | 7098471 | 144,1 | 7,72 | 2,35 | | 3,15 |
| | 21 | 371 | 7098457 | 172,5 | 9,75 | 1,53 | | 2,18 |
| | 23 | 372 | 7098458 | | 7,87 | 1,86 | | 2,94 |
| | 25 | 373 | 7098459 | 131,8 | 9,9 | 2,4 | | 2,09 |
| | 27 | 374 | 7098460 | 111,9 | 7,82 | 0,86 | | 2,86 |
| | 29 | 375 | 7098461 | | | | | |
| | 33 | 377 | 7098463 | 164,7 | 8,75 | 3,45 | | 3,38 |
| | 8 | 357 | 7098474 | | | | | |
| | 12 | 359 | 7098476 | 144,2 | 8,46 | 3,26 | | 2,71 |
| | 35 | 378 | 7098464 | | 8,75 | 2,28 | | 2,97 |
| | 37 | 379 | 7098465 | | | 1,51 | | 6,02 |
| | 39 | 37A | 7098466 | | | 1,34 | | |
| | 41 | 37C | 7098467 | | 9,87 | 1,21 | | 2,24 |
| | 43 | 37F | 7098468 | | | 2,46 | | 3,7 |
| | 45 | 37H | 7098469 | | | | | |

Tabla 10.- Minerales plasmáticos en *Larus michahellis*. Abril 2007

3.2.4. Minerales plasmáticos en *Larus audouinii*

Los datos obtenidos en este apartado se muestran en la Tabla 11. Lamentablemente y, debido a la escasez de sangre, no fue posible analizar el contenido en hierro plasmático, (necesita un elevado volumen de plasma), ni todos los minerales en todas las muestras. Al comparar las dos especies, no observamos diferencias entre los niveles plasmáticos de calcio y zinc, pero si un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,01$) en la cantidad de fósforo plasmático de las gaviotas de Audouin con respecto a las patiamarillas, así como una descenso en la cantidad de magnesio. Dado que ambos minerales están dentro del rango descrito para otras especies del género *Larus*, y que los datos son muy dispares, y su número escaso, no cabe pensar ningún significado especial para estas diferencias. (Tabla 12)

| | METALICA | Ca | P | Mg | Zn |
|--|----------|-------|------|------|--------|
| | | | | | |
| | 6163601 | 6,89 | 5,53 | 1,67 | 153,64 |
| | 6085561 | 7,16 | 4,14 | 2,29 | 171,43 |
| | 6088118 | 9,41 | | 1,95 | |
| | 6163602 | 5,99 | | 2,01 | |
| | 6163603 | 7,49 | 2,18 | 0,86 | |
| | 6163604 | 11,01 | | 1,03 | |
| | 6163605 | 16,27 | | 1,01 | |
| | 6163606 | 7,41 | 5,12 | 0,67 | 183,67 |
| | 6163607 | 10,82 | 4,62 | 0,84 | 137,41 |
| | 6163608 | 6,04 | 6,83 | 1,7 | 85,49 |
| | 6063172 | 6,75 | | 1,72 | 82,35 |
| | 6163609 | | 4,23 | | |
| | 6032379 | 8,5 | 2,08 | 1,04 | 82,35 |
| | 6163610 | 6,36 | | 1,34 | 109,02 |
| | 6163611 | | 2,68 | | |
| | 6163612 | 6,73 | 2,46 | 0,78 | 48,63 |
| | 6163613 | 5,29 | 2,81 | 1,22 | |
| | 6163614 | 5,76 | 3,55 | 1,08 | 80,78 |
| | 6163615 | 6,48 | 2,64 | 1,43 | 222,99 |
| | 6163616 | 5,89 | 3,39 | 0,89 | 220,69 |
| | 6163617 | 8,04 | 3,21 | 1,83 | 135,63 |
| | 6163618 | 6,91 | 3,91 | 1,54 | 165,52 |
| | 6163619 | | | 0,91 | 187,36 |

Tabla 11.- Minerales plasmáticos en *Larus audouini*. Mayo 2007

| | <i>Larus michaellis</i> Febrero 2007 | <i>Larus michaellis</i> Abril 2007 | <i>Larus audouini</i> Mayo 2007 |
|---------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|
| Calcio (mg/dL) | 7,91 ± 1,05 | 8,83 ± 0,69**↑ | 7,76 ± 1,32 |
| Fósforo (mg/dL) | 1,49 ± 0,74 | 2,51 ± 0,82**↑ | 3,71 ± 1,32**↑ |
| Zinc (mg/dL) | ---- | 166,3 ± 26,2 | 137,6 ± 54,62 |
| Hierro (mg/dL) | 102,95 ± 33,97 | 97,6 ± 60,32 | ----- |
| Magnesio (mg/dL) | 2,47 ± 0,74 | 2,15 ± 0,82 | 1,32 ± 0,47 **↓ |

TABLA 12.- COMPARACIÓN MEDIANTE T DE STUDENT ENTRE LOS VALORES OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES MUESTREOS DE LAS DOS ESPECIES (SE EXPRESAN COMO MEDIA ± DESVIACIÓN ESTANDAR)

- *p < 0,05, ** p < 0,01 ↑↓ Comparación entre el muestreo de Febrero y Abril de *L. michaellis*
- *p < 0,05, ** p < 0,01 ↑↓ Comparación entre *L. michaellis* y *L. audouini* en época de cría

3.2.5. Actividad enzimática en *L. michahellis* y *L. audouinii*

- Por lo que respecta al análisis de la actividad de algunas enzimas, hay que hacer notar un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,01$) de la actividad de la fosfatasa alcalina en el plasma de las gaviotas patiamarillas capturadas en abril, con respecto a las capturadas en febrero, que presentan una actividad reducida casi al 50% (Tabla 13). Por otro lado, la actividad de la fosfatasa alcalina en las gaviotas de Audouin aumentó un 30% con respecto a la de las gaviotas patiamarillas en la misma época de cría. Aunque aumentos en la actividad de esta enzima en aves se han asociado a daños hepáticos (Kertész, V. and Hlubik, I. 2002) también sucede en situaciones de aumento en la actividad metabólica, lo que es típico de la época de cría. Además, cada especie puede tener una determinada actividad basal en cada período de su vida. No hubo diferencias en la actividad GOT plasmática de las gaviotas patiamarillas, pero sí un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,01$) en la actividad GPT en las gaviotas patiamarillas muestreadas en época de cría con respecto a las anteriores. Estas enzimas tienen una amplia distribución tisular, encontrándose presentes en hígado, corazón, músculo esquelético, riñón, eritrocitos.. etc. En general un aumento específico de la actividad GPT plasmática puede ser indicativo de enfermedad hepática (Seiser, P.E. et al., 2000), pero no se puede afirmar claramente este hecho sin hacer un estudio hepático. Por otra parte, las gaviotas de Audouin presentaron un claro aumento de la actividad de estas enzimas al compararlas con las patiamarillas, pero, una vez más, puede haber grandes diferencias en la actividad de estas enzimas en distintas especies. Sólo tiene sentido comparar datos de la misma especie en diferentes situaciones. Por último, no hubo cambios en la actividad de la creatina quinasa plasmática, indicativa del funcionamiento del músculo esquelético.

| | <i>Larus michaellis</i> Febrero 2007 | <i>Larus michaellis</i> Abril 2007 | <i>Larus audouini</i> Mayo 2007 |
|------------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|
| Fosfatasa alcalina (UI/L) | 59,12 ± 16,73 | 100,3 ± 34,71**↑ | 130,69 ± 74,41**↑ |
| GOT (AST) (UI/L) | 37,85 ± 5,80 | 32,16 ± 16,20 | 50,35 ± 12,62**↑ |
| GPT (ALT) (UI/L) | 12,87 ± 4,29 | 20,57 ± 8,59**↑ | 27,43 ± 8,40 *↑ |
| Creatin-Kinasa (UI/L) | --- | 153,62 ± 98,68 | 192,71 ± 84,59 |

TABLA 13.- COMPARACIÓN MEDIANTE T DE STUDENT ENTRE LOS VALORES OBTENIDOS EN LOS DIFERENTES MUESTREOS DE LAS DOS ESPECIES (SE EXPRESAN COMO MEDIA ± DESVIACIÓN ESTANDAR)

- *p < 0,05, ** p < 0,01 ↑↓ Comparación entre el muestreo de Febrero y Abril de *L. michaellis*
- *p < 0,05, ** p < 0,01 ↑↓ Comparación entre *L. michaellis* y *L. audouini* en época de cría

4. CONSIDERACIONES FINALES

En el presente informe se presentan resultados concernientes a la hematología y bioquímica sanguínea de las dos especies de gaviotas de las islas Chafarinas: *Larus michahellis* y *Larus audouinii*, de las que, además se han recogido huevos y muestras de sangre y plasma para analizar el contenido en metales pesados y organoclorados. En primer lugar nos gustaría señalar que, a pesar de todas las dificultades, se han cumplido los objetivos marcados en el informe inicial, en el que se apuntaba un mínimo de 20 muestras de huevos y adultos/especie para tener un número fiable de datos.

En segundo lugar, consideramos de gran importancia la recogida de estas muestras ya que, desde nuestro conocimiento, no existen datos en España sobre las características hematológicas de estas especies, que, aunque se relacionarán posteriormente con los niveles de los diferentes contaminantes, servirán, por si solos, como referencia para comparar poblaciones de otros lugares e inferir semejanzas y diferencias.

Todos los ejemplares recogidos de ambas especies (*Larus michahellis* y *Larus audouinii*) se encontraban en buen estado, sin signos de emaciación ni enfermedad aparente. Las medidas biométricas realizadas (peso y longitud alar fundamentalmente) se encontraban dentro o eran superiores al rango descrito para estas especies. Por último, todos los parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea, como ya se ha comentado en este informe están dentro del rango referido para otras especies sanas del género *Larus*. Así pues, podemos concluir que las gaviotas muestreadas en el RNC Islas Chafarinas, se encuentran en un estado bastante saludable, siempre desde el punto de vista de los parámetros analizados

ANEXO 1.
PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS

Acta de la reunión mantenida en Febrero del 2007 entre representantes de OAPN, UCM, CISA-INIA y GENA referente al protocolo de captura de ejemplares de *Larus michaellis* y *Larus audouini*

Captura de *Larus audouinii*

- Para la captura de **ADULTOS** se considera que la época más adecuada sería durante la incubación de los huevos, momento en que la querencia hacia la zona es muy fuerte y es más difícil que se produzca el abandono. Las fechas previstas serán de **19 al 26 de Mayo**.

Método: Trampas en nido que permiten capturar a un adulto incubando

Época: se realizará al mismo tiempo que se efectúa el conteo de nidos de los distintos núcleos en el mes de mayo (16 al 26 de Mayo).

Número de trampas por núcleo: se entre 5 y 7

Condicionantes: la colocación de las trampas se realizará al mismo tiempo que se efectúa el conteo de nidos y no empleando más tiempo que el necesario para acabar con el conteo. Hay que tener en cuenta que en los núcleos pequeños este conteo no lleva más de 10 o 15 minutos y en los grandes no más de 20.

Las trampas se localizarán preferentemente en los bordes de la colonia. Una vez instaladas, se entrará con la mayor rapidez posible a recolectar los adultos que hayan caído. Dichos individuos se llevarán al lugar elegido para su manipulación en un lugar que no produzca molestias a los núcleos de cría de esta especie.

Lugar de manipulación: se instalará uno de ellos en la caseta del promontorio sur y otra a definir. Esta ubicación podrá variar en función de la localización de los núcleos de La este año.

Tiempo de manipulación: máximo 5 o 10 minutos por individuo. Una vez manipulados se soltarán directamente desde el mismo lugar sin volver a molestar al núcleo de cría

Tamaño de muestra: Entre 5 y 7 individuos por núcleo.

Toma de muestras: para los dos proyectos sanitarios hacen falta al menos 3 ml por individuo.

Personal necesario: se contará con tres personas del INIA, tres de UCM y al menos tres de OAPN. El personal de OAPN y entre dos y cuatro de los otros dos equipos colaborarán en el conteo de nidos, la colocación y retirada de trampas y el traslado de los animales desde las trampas a la zona de trabajo. Al menos una persona de OAPN tendrá experiencia en el anillamiento de

adultos de *L. audouinii* ya que todos los individuos capturados se anillarán con anilla metálica y de PVC.

Método adicional de captura: Además, como método adicional se podrá emplear la captura con red de tiro a partir del 15 de julio, momento en que ya ha terminado la cría y los adultos se concentran para iniciar la migración. La red se empleará si no se ha conseguido un suficiente número de muestras durante la captura en nido.

- Recolección de **HUEVOS**, el momento adecuado será durante la incubación. Las fechas previstas serán de **19 al 26 de Mayo**.

Método: Recolección en los nidos donde se capturen adultos incubando.

Época: se realizará al mismo tiempo que se efectúa el conteo de nidos de los distintos núcleos en el mes de mayo (16 al 26 de Mayo).

Número de huevos por nido: entre 1 ¿y 2?

Condicionantes: Los mismos que en la captura de adultos.

Lugar de manipulación: No procede. Los huevos serán inmediatamente depositados en refrigeración en recipientes adecuados. Se tomará en cuenta la localización de los núcleos de *L. audouinii* este año para una adecuada representatividad.

Tiempo de manipulación: Una vez recogidos se marcarán directamente para medirlos posteriormente para evitar más molestias al núcleo de cría

Tamaño de muestra: Entre 5 y 7 huevos por núcleo.

Toma de muestras: para los dos proyectos sanitarios hacen falta al menos 20 + 20 huevos.

- Para la captura de **POLLOS** el momento más adecuado es el mes de junio coincidiendo con el anillamiento.

Método: Captura en mano

Época: se realizará al mismo tiempo que se efectúa el anillamiento de pollos durante el mes de junio. Las fechas previstas son de **16 al 23 de junio**.

Condicionantes: la captura de los pollos la realizarán las personas encargadas del anillamiento pero la manipulación de los mismos para extraer las muestras necesarias deberá ser in situ y con la mayor rapidez posible, devolviendo inmediatamente al pollo a su lugar. El tiempo de permanencia en cada núcleo será el que dure el anillamiento. Hay que tener en cuenta que en función de diversos factores (número de pollos, localización de los núcleos,...) el anillamiento puede ser interrumpido si el responsable del mismo lo considera oportuno. En ningún caso los pollos se sacarán fuera del núcleo.

Tamaño de muestra: se recogerán tantas muestras por núcleo que se anille como número de pollos que de tiempo a anillar en lo que dure la realización del anillamiento.

Captura de Larus michaellis

- Los **ADULTOS** de esta especie se capturarán empleando trampas en nido (igual que *L. audouinii*) durante la época de nidificación de esta especie que es el mes de Abril. Además se harán prácticas para capturar también individuos empleando una red de tiro. Estas prácticas se realizarán en el mes de febrero, comprobándose al tiempo la eficacia y funcionamiento real del sangrado y operatividad de los aparatos (Espectrofotómetro, microcentrífuga, ...) y despliegues necesarios.

Método: Trampas en nido que permiten capturar a un adulto incubando

Época: Del 9 al 16 de Abril

Toma de muestras: para los dos proyectos sanitarios hacen falta 3 ml por individuo.

Personal necesario: se contará con tres personas del INIA, tres de UCM y 2 de OAPN.

Condicionantes: La captura de adultos de esta especie no se llevará a cabo en los cercados de parafinado en la isla del Congreso para evitar interferencias con el experimento de parafinado.

- Recolecta de **HUEVOS**, el momento adecuado será durante la incubación. Las fechas previstas serán de **9 al 16 de Abril**.

Método: Recolección en los nidos donde se capturen adultos incubando.

Época: se realizará al mismo tiempo que se efectúa el conteo de nidos de los distintos núcleos en el mes de mayo (9 al 16 de Abril).

Número de huevos por nido: entre 1 ¿y 2?

Condicionantes: Los mismos que en la captura de adultos.

Lugar de manipulación: No procede. Los huevos serán inmediatamente depositados en refrigeración en recipientes adecuados. Se tomará en cuenta la localización de los núcleos de *L. michahellis* este año para una adecuada representatividad.

Tiempo de manipulación: Una vez recogidos se marcarán directamente para medirlos posteriormente y evitar más molestias al núcleo de cría

Tamaño de muestra: Entre 5 y 7 huevos por núcleo.

Toma de muestras: para los dos proyectos sanitarios hacen falta al menos 20 + 20 huevos.

- Los **POLLOS** se capturarán en los cercados de parafinado aprovechando la captura y marcaje de los mismos que se efectúa en el mes de mayo (Fecha: 19 al 26 de Mayo).

Material necesario

Para la captura de adultos tanto de *L. audouinii* como de *L. michahellis* habrá que disponer de al menos 10 trampas como las que se encuentran actualmente en la Estación Biológica. Para ello será necesario encargar su confección en Melilla, de lo que se encargará en Melilla el personal de GENA.

Para la captura de adultos de *L. audouinii* tras el periodo reproductor hará falta una red de tiro. Igualmente las gestiones para su adquisición y manejo se llevarán a cabo por parte del personal de GENA.

OTRO MATERIAL

- Pesolas de 1 Kg. y 500 gr. (2 de cada)
- Reglas alares (2)
- Calibres de reloj (2)

De este material GENA se hace cargo de hacer las gestiones para su adquisición

- Estufa de desecación a 39 °C (Se comprobará que funciona correctamente la existente en la Estación Biológica)
- Refrigeración: GENA se hace cargo de las gestiones para mantener las muestras congeladas en Melilla (Hotel Melilla Puerto)

Otras cuestiones pendientes

Estima de edades: Falta averiguar si existe algún método para estimar las edades de los adultos. GENA hará las gestiones necesarias para averiguarlo

Protocolo de uso y aprovechamiento de las muestras

En la práctica a cada animal capturado se le irán tomando, en este preciso orden:

1. Muestras de sangre (Hasta 5 ml si es posible)
2. Hisopos cloacales y nasofaríngeos
3. Biometría
4. Anillamiento

Cada animal capturado será registrado anotándose:

- Id Individuo
- Especie
- N° de anilla metálica
- Id. PVC
- Lugar de captura y anillamiento (Isla, núcleo, ...)
- Hora de muestreo
- Peso
- Volumen de sangre extraído
- N° de huevos en el nido

Biometría:

- Longitud cráneo-pico
- Longitud del pico
- Longitud del pico en el culmen
- Anchura máxima de pico
- Anchura mínima de pico
- Nalospí
- Cuerda máxima del ala
- Longitud del Tarso

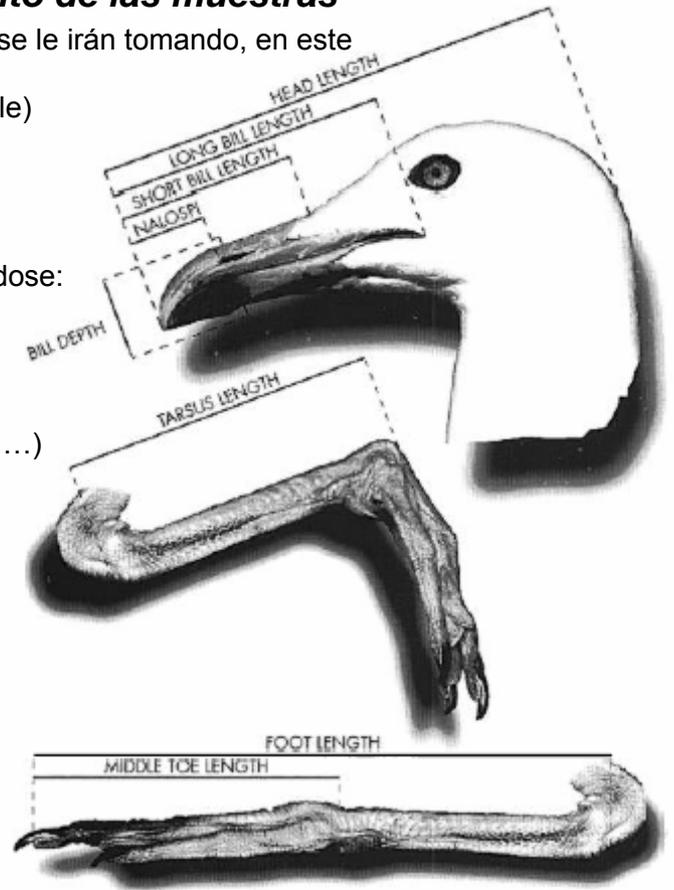


FIGURE 1. Variables measured (excluding wing and tail) to sex Yellow-legged Gulls.

Cada muestra obtenida será registrada con una numeración correlativa coincidente con el Id Muestra, anotándose, además del identificador de individuo (para relacionar con la tabla anterior) cual es el tipo de muestra de las siguientes:

- Id Muestra
- Id Individuo
- Cantidad aproximada de sangre
- Sangre en EDTA
- Sangre en Heparina
- Hisopo cloacal
- Hisopo nasofaríngeo
- Hisopo para PCR

ANEXO 2

**TABLAS E IMÁGENES DE LOS LUGARES DE
CAPTURA, IDENTIFICACIÓN DEL AVE Y
BIOMETRIAS REALIZADAS.**



Colocación de la red de tiro para la captura de ejemplares de gaviota patiamarilla. Quemadero de basura. Isabel II.



Extracción de sangre de la vena radiocubital de la gaviota



Toma de la medida alar en la gaviota de Audouin



Trampa nido para las gaviotas situada en la isla de Rey

I