



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DE LA HETEROSIS EN LA REHABILITACIÓN CLÍNICA DE LOBOS MARINOS (*Zalophus californianus*) VARADOS EN CALIFORNIA, EEUUA

Tesis para obtener el título de:

Medico Veterinario y Zootecnista

Presenta

Adriana Estefania Flores Morán

Asesores

PhD. Karina Acevedo Whitehouse

MVZ. Ezequiel Chávez Sánchez



Morelia, Michoacán a diciembre del 2012

AGRADECIMIENTOS



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA HETEROSIS EN LA REHABILITACIÓN CLÍNICA DE LOBOS
MARINOS (*Zalophus californianus*) VARADOS EN CALIFORNIA, EEUU**

Tesis que presenta:

Adriana Estefania Flores Morán

Para obtener el título de

Médico Veterinario y Zootecnista

Morelia, Michoacán a diciembre del 2012

A mis padres por que sin ustedes no sería la persona que soy en este momento y por apoyarme incondicionalmente en esta aventura, sobre todo en mi nueva etapa como mamá, y por siempre darme una palabra de aliento en todo momento.

A mis hermanos Lili y Poncho por apoyarme en todo momento, y sobre todo por esos momentos de risas que hacen esto un poco mas ameno.

A mi familia adoptiva Bertha Alicia, José Luis Tellez, Yasir, Glafi, Glafirita, Ivette, Carlos, Cesar y Neri por creer en nosotros y siempre alentarnos a seguir adelante.

A mi directora y amiga Karina Acevedo-Whitehouse muchas gracias por darme esta gran oportunidad de trabajar contigo y por ser un gran ejemplo de trabajo, esfuerzo, superación, honestidad, sencillez, comprensión y buen sentido del humor.

A mi nueva familia, José Luis muchas gracias por estar a mi lado en todo momento y darme fuerzas en esos momentos tan difíciles y por esta maravillosa experiencia llena de sonrisas, juegos, cantos, llantos, tristezas, enojos, desvelos y de mucho aprendizaje, TE AMO.

A mi pequeño Alí que sin saberlo nos enseñas a papá y a mí mucho más de lo que nosotros podemos enseñarte y porque con una sonrisa (aunque sea de vampirito jajaja) llenas mi vida de alegría y por ser una fuerte razón de seguir adelante, te adoro cachorro!!!... aunque a todo digas que NO!!!

A Ceci, amiga muchas gracias por darme una cálida bienvenida al equipo de trabajo y por ser parte de todo un proceso tan importante y maravilloso como es el de ser mamá y por todo tu apoyo en esos momentos a veces un tanto difíciles.

A Cami, por toda la confianza que me diste y por esos ratos de pláticas y de momentos muy divertidos.

Al gran equipo de trabajo del laboratorio de Genética Molecular y Ecología Evolutiva, Karina, Fausto, Ceci, Christian, Ana, Oscar, Ale, Zyanya, Denia, Yara, Moni, Anaí, Mónica, Eunice, Chuy y Fabiola...amiga queda pendiente la ida al super jajaja.

A todos mis profesores que tuvieron un impacto en mi vida y en mi desarrollo académico y personal, que me motivaron a seguir creciendo y enseñarme a querer, valorar y respetar mi profesión y hacer las cosas de manera correcta: Ruy Ortiz Rodríguez, Salvador Padilla Arellanes, Norma Avilés, Leslie Garate, Ezequiel Chávez Sánchez, María Elena Granados, Juan José Valdez, Manuel Hernández.

A Elsa, Janitzio y Zazil, por brindarme su amistad y compartir conmigo la gran noticia de la llegada de Alí y enseñarme el valor de la familia y por todos sus cuidados. Elsa... gracias por esos tips para ser una buena esposa jajajaja. Janitzio gracias por todos tus consejos.

“La principal y más poderosa rémora que detiene a nuestro país en el camino del engrandecimiento es la ignorancia; la falta de ilustración de nuestro pueblo es la que lo convierte en pasivo e inconsciente instrumento de los intransigentes y parlanchines que lo explotan sin cesar, haciéndolo a la vez víctima y verdugo de sí mismo”

Gabino Barreda

CONTENIDO

<u>INTRODUCCIÓN</u>	<u>16</u>
<u>I. ANTECEDENTES</u>	<u>18</u>
I.1. BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN BIOLÓGICA	18
I.1.1. FACTORES QUE AUMENTAN EL RIESGO DE EXTINCIÓN Y AFECTAN LA CONSERVACIÓN DE LAS POBLACIONES SILVESTRES	20
I.1.2. ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y CONSERVACIÓN BIOLÓGICA	22
I.2. EL SISTEMA INMUNE DE LOS HOSPEDEROS	24
I.3. ENDOGAMIA Y SUSCEPTIBILIDAD A ENFERMEDADES INFECCIOSAS	25
I.4. ESTIMACIONES DE HETEROCIGOSIDAD/HOMOCIGOSIDAD	28
I.4.1. ESTIMADORES MOLECULARES DE ENDOGAMIA	28
I.4.2. CORRELACIONES HETEROCIGOSIDAD-EFICACIA BIOLÓGICA (HFC)	30
I.5. EL LOBO MARINO DE CALIFORNIA (<i>ZALOPHUS CALIFORNIANUS</i>)	32
I.6. ENFERMEDADES QUE AFECTAN AL LOBO MARINO DE CALIFORNIA	34
<u>II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u>	<u>39</u>
<u>III. JUSTIFICACIÓN</u>	<u>40</u>
<u>IV. HIPÓTESIS</u>	<u>41</u>
<u>V. OBJETIVO GENERAL</u>	<u>42</u>
<u>VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u>	<u>42</u>
<u>VII. MATERIAL Y MÉTODOS</u>	<u>43</u>
<u>VIII. ANÁLISIS DE DATOS</u>	<u>44</u>
<u>IX. RESULTADOS</u>	<u>46</u>
<u>X. DISCUSIÓN</u>	<u>62</u>
<u>XI. CONCLUSIONES</u>	<u>65</u>
<u>LITERATURA CITADA</u>	<u>66</u>

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Estatus actual de la conservación de los mamíferos	20
Cuadro 1. Mecanismos por los cuales las enfermedades infecciosas pueden conducir a la extinción a poblaciones silvestres.....	23
Cuadro 2. Comparación entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa	25
Cuadro 3 Clasificación de la edad del lobo marino de California de acuerdo a sus características morfológicas.	43
Cuadro 5 Descripción de datos clínico-biológicos de los lobos que fueron sometidos a rehabilitación	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Categoría de la Lista Roja de la IUCN sobre el estado de conservación de las especies.....	19
Figura 2. Características del dimorfismo sexual entre hembras y machos	33
Figura 3 Nivel de endogamia promedio (indicado como Índice de Relación Interna, IR) por categoría de enfermedad en lobos marinos de California, <i>Zalophus californianus</i> . Imagen tomada de Acevedo-Whitehouse et al., 2003).....	38
Figura 4. Porcentaje de lobos marinos incluidos en el estudio de acuerdo al sexo	46
Figura 5. Porcentaje de individuos por categoría de edad	47
Figura 6. Porcentaje de individuos de acuerdo con el diagnóstico de varamiento.....	47
Figura 7. Porcentaje de individuos de acuerdo a la resolución.....	48
Figura 8. Sitios de varamiento: (Alam) Alameda, (CC) Contra Costa, (Mar) Marin, (Mend) Mendocino, (Mont) Monterey, (Sac) Sacramento, (SB) Santa Barbara, (SC) Santa Cruz, (SF) San Francisco, (SLO) San Luis Obispo, (SM) San Mateo, (Son) Sonoma, (Vent) Ventura. En California, EEUUA.....	49
Figura 9. Histogramas de frecuencia para a) el índice de relación interna y b) periodo de tratamiento en días.	49

Figura 10. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a intoxicación con ácido domóico. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$).....	50
Figura 11. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos que vararon debido a leptospirosis. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$).	51
Figura 12. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a desnutrición. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$).....	51
Figura 13. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a trauma. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$).....	52
Figura 14. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos para los cuales las causas de varamiento no fueron determinadas. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$).	52
Figura 15. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a enfermedades bacterianas. La relación entre las variables fue significativa ($p<0.05$).....	53
Figura 16. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a enfermedades parasitarias. La relación entre las variables fue significativa ($p<0.05$).....	53
Figura 17. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para enfermedades bacterianas. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.	54
Figura 18. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para intoxicación con ácido domóico. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.	55
Figura 19. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para desnutrición. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.....	55
Figura 20. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para enfermedades parasitarias. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.	56
Figura 21. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para trauma. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.....	56
Figura 22. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para enfermedades no determinadas. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.	57
Figura 23. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para leptospirosis. La diferencia entre los grupos es significativa ($p<0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.	57
Figura 24. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por intoxicación con ácido domóico. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$).	58

Figura 25. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por enfermedades bacterianas. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$)..... 59

Figura 26. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por desnutrición. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$). 59

Figura 27. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por leptospirosis. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$). 60

Figura 28. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos para los cuales no se determino la causa de varamiento. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$). 60

Figura 29. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por enfermedades parasitarias. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$)..... 61

Figura 30. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por trauma. La relación entre las variables no fue significativa ($p>0.05$). 61

INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica del planeta está disminuyendo de forma alarmante, lo que se aprecia en una disminución y fragmentación de hábitats y de poblaciones, así como en la extinción de muchas especies (Frankham et al., 2002). Esta disminución dramática de la biodiversidad ha sido llamada la “sexta extinción”, la cual ha sido comparada con otras grandes extinciones que han tomado lugar a lo largo de la historia del planeta (Leakey y Lewin, 1995), sin embargo, a diferencia de las anteriores, esta extinción ha ocurrido de forma más rápida (Frankham et al., 2002).

De manera reciente, se han identificado potenciales vías de extinción para los mamíferos como son una pequeña distribución geográfica, baja densidad poblacional, tasa lenta de reproducción, amplio rango de distribución, talla corporal muy grande, tipo de hábitat y periodo de actividad (Davidson et al, 2009). Sin embargo, las especies están sujetas a presiones que van más allá de las que están dadas por características propias de la especie, tales como factores relacionados con el crecimiento de la población humana y la expansión de su huella ecológica (Jackson et al., 2001; Hughes et al, 2003). Es decir que el impacto antropogénico no solo incluye la sobreexplotación, sino deforestación, urbanización, desertificación (Davidson et al, 2009), pérdida o alteración de hábitats, introducción de especies exóticas, propagación de patógenos, acumulación de contaminantes y cambio climático regional que han modificado los sistemas físicos y biológicos de tal manera que, afecta negativamente el bienestar y supervivencia de muchas especies (Thomas et al., 2004; Hoffman y Willi, 2008).

Un fenómeno asociado a poblaciones de tamaños pequeños es la endogamia, que es definida como el apareamiento entre individuos que comparten uno o más ancestros, lo que conlleva a un incremento de la proporción de alelos homocigotos en la descendencia, y que puede resultar en la disminución de la eficacia biológica (Wright, 1921 y Crow, 1948). De manera colectiva este fenómeno se conoce como depresión endogámica. Un incremento de la homocigosidad puede incrementar las probabilidades de expresión de alelos nocivos recesivos (Crow, 1948). Esto tiene implicaciones principalmente para aspectos de eficacia biológica como la supervivencia, la susceptibilidad a enfermedades y

el éxito reproductivo, mismos que han sido demostrados en diversas especies (Reed y Frankham, 2003).

Uno de los aspectos que se han estudiado para conocer el impacto que puede tener la endogamia en la eficacia biológica incluye componentes del sistema inmunológico, el cual de manera general tiene una función de respuesta ante patógenos. Las respuestas inmunes se pueden dividir en innatas que son rápidas y no específicas (Roitt et al., 2001 y Collado, et al., 2008) que comparten organismos vertebrados como invertebrados, y las respuesta adaptativas que forman un sistema complejo y sofisticado que proporciona el último nivel de defensa del organismo, y está dividido en dos tipos de respuesta inmune, una mediada por anticuerpos y otra mediada por células (Tizard, 2009). Las respuestas inmunes adaptativas celulares dependen de una gran variación alélica para un mayor reconocimiento de patógenos por lo que individuos con mayores niveles de homocigosidad, tendrán un impacto negativo sobre este aspecto (Klein, 1986; O'Brien y Evermann, 1988; Potts y Wakeland, 1990; Kurtz et al., 2004; Trowsdale y Parham, 2004).

Uno de los estudios que se realizó para conocer cual era el efecto de los niveles de heterocigosidad sobre la susceptibilidad a enfermedades en animales de vida libre mostró que el nivel de homocigosidad promedio varió significativamente en lobos marinos de California de acuerdo con la enfermedad que presentaban, y que la respuesta inmune a diversos patógenos pareció estar influenciada por los niveles individuales de heterocigosidad (Acevedo-Whitehouse et al., 2003). En esta tesis se planteó investigar si la heterocigosidad también determina el tiempo de rehabilitación, la probabilidad de volver a varar y la probabilidad de supervivencia. De comprobarse estas hipótesis, se sugeriría que la endogamia puede ser un factor de relevancia para programas de conservación, rehabilitación y manejo de fauna silvestre (Acevedo-Whitehouse et al., 2003).

Para los mamíferos, la última lista Roja de la IUCN (Red List, 2008), incluye 5,488 especies, 412 subespecies y 21 subpoblaciones. Casi un cuarto (22%) de las especies se encuentran en peligro de extinción (más de la mitad de sus poblaciones están declinando) (Cuadro 1). Aunque 3,433 (63%) de las especies de mamíferos no están considerados como amenazados actualmente, 323 (6%) están listadas como casi amenazadas, y el resto 3,110 de las especies están listadas como de preocupación menor (IUCN, 2009; Davidson et al, 2009).

I. ANTECEDENTES

I.1. Biodiversidad y Conservación Biológica

La magnitud y distribución de las especies que existen hoy en día es producto de más de 3.5 billones de años de evolución, en los que fenómenos de (especiación, radiación y extinción) han jugado un papel fundamental. Actualmente se estima que existen entre 8 y 14 millones de especies en el planeta, y de éstas 1.8 millones han sido descritas (Peeters et al, 2003).

La Lista Roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) maneja ocho diferentes categorías para determinar el estado de conservación de una especie: extinta (EX), extinta en vida libre (EW), peligro crítico (CR), peligro (EN), vulnerable (VU), casi amenazado (NT), preocupación menor (LC) e información insuficiente (DD) (Fig. 1). Para el año 2000 se evaluó la situación de 16,507 especies de las cuales 11,406 se enlistaron como amenazadas (Hilton-Taylor, 2000); para el año 2004 la lista incluyó 38,047 especies de las cuales 15, 589 se enlistaron como amenazadas (Baillie et al., 2004). Comparativamente, en el 2008 la lista incluyó 44,838 especies, de las cuales 869 se encuentran extintas y 65 extintas en estado salvaje, 290 especies enlistadas como “posiblemente extintas”, 16, 928 se encuentran amenazadas (3,246 en peligro crítico, 4,770 en peligro y 8,912 se encuentran vulnerables), 3,796 están enlistadas como no amenazas y 5,570 especies carecen de información suficiente para determinar su estatus. Sin embargo, el estado de conservación del resto de las especies es poco conocido, lo cual sesga las inferencias sobre las especies mejor estudiadas y aquellas que se encuentran en zonas más investigadas (Hilton et al, 2009).

De los grupos taxonómicos animales, los mamíferos ocupan gran parte de los hábitats terrestres y marinos, por ende juegan un papel clave en los ecosistemas (por ejemplo en términos de pastoreo, depredación y dispersión de semillas) y conllevan beneficios al ser humano, tales como alimento, actividades recreativas y un sustento económico; no obstante el conocimiento y comprensión de estas especies resulta aún insuficiente (Reeder et al, 2007; Ceballos y Ehrlich, 2006; Grenyer, 2006).

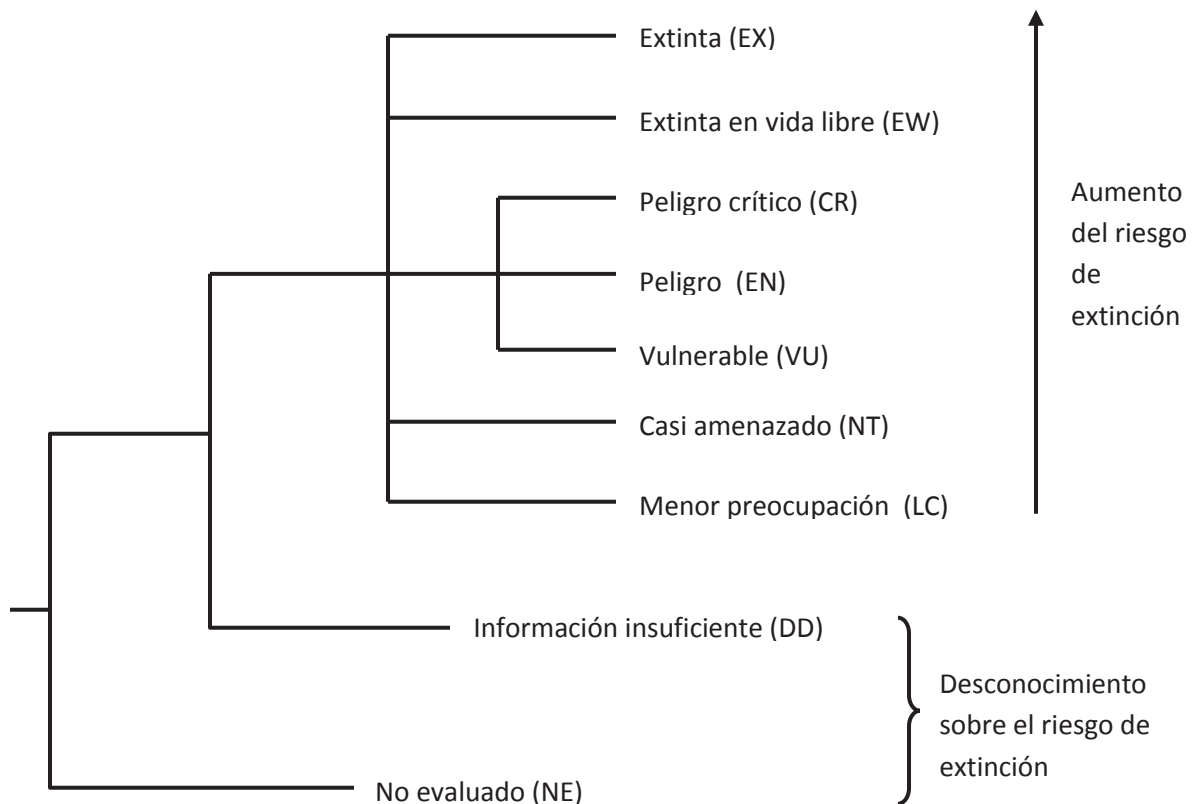


Figura 1. Categoría de la Lista Roja de la IUCN sobre el estado de conservación de las especies

La evaluación de las tendencias de las poblaciones es fundamental para determinar su estado actual y predecir su situación futura. Considerando las tendencias actuales de las poblaciones de mamíferos existentes que han sido estudiados, se estima que el 30% está en decadencia. Es altamente probable que este dato subestime la situación real, ya que para el 44% de las especies no hay datos disponibles (IUCN, 2009). Además para algunas especies el esfuerzo de recopilación de datos es mayor que para otras, por lo que también puede haber un sesgo en la información disponible.

Cuadro 1. Estatus actual de la conservación de los mamíferos

N° total de mamíferos	5,488
Población en peligro de extinción	1,219
Especies Extintas	76
Extintas en estado silvestre	2
Posiblemente extintas	29

IUCN, 2009

I.1.1. Factores que aumentan el riesgo de extinción y afectan la conservación de las poblaciones silvestres

Recientemente, se han identificado algunas potenciales vías de extinción para los mamíferos como son una pequeña distribución geográfica, baja densidad poblacional, tasa lenta de reproducción, amplio rango de distribución, talla corporal muy grande, tipo de hábitat y periodo de actividad (Davidson et al, 2009). En la actualidad, dado que los ecosistemas están expuestos a factores relacionados con el crecimiento de la población humana y la expansión de su huella ecológica (Jackson et al., 2001; Hughes et al, 2003), el impacto antropogénico ya no solo incluye la sobreexplotación, sino deforestación, urbanización, desertificación (Davidson et al, 2009), pérdida o alteración de hábitats, introducción de especies exóticas, propagación de patógenos, acumulación de contaminantes y cambio climático regional que han modificado los sistemas físicos y biológicos de tal manera que, afecta negativamente el bienestar y supervivencia de muchas especies (Thomas et al., 2004; Hoffman y Willi, 2008).

Por ejemplo la degradación y la fragmentación del hábitat no solo disminuyen la disponibilidad de alimento y restringen la movilidad de los animales en detrimento de su estado nutricional y flujo de genes, sino que aumentan la probabilidad de contacto entre humanos, animales domésticos y fauna silvestre lo cual aumenta el riesgo de transmisión de enfermedades (Smith et al., 2009; Acevedo-whitehouse y Duffus, 2009). Asimismo los contaminantes pueden ejercer efectos directos e indirectos sobre la calidad y estado de los hábitats, como es el caso de la producción de ácido domóico, una potente neurotoxina producida por algunas especies de diatomeas del género *Pseudonitzschia*. De manera

general la sobreproducción global de algas marinas tóxicas ha incrementado en años recientes (Van Dolah, 2000; Harness, 2005), lo cual se atribuye a los cambios de régimen oceanográfico, la sobrepesca, la circulación y descarga de residuos de lastre, eutroficación de aguas marinas y el cambio climático regional (Anderson 1997; Landsberg, 2002; Chávez et al, 2003). Los efectos nocivos de estas surgencias tóxicas se ha documentado para humanos que consumen productos marinos contaminados (Álvarez-Falconi, 2009), y se han reportado efectos semejantes en fauna marina (Work et al, 1993; Scholin et al, 2000). De manera general se ha observado que los contaminantes afectan de manera indirecta la supervivencia de especies susceptibles, además de que de manera directa alteran los parámetros reproductivos (Sonne et al., 2006), proporción de sexos (Reusch y Wood, 2007) y el estado inmunocompetente de sus poblaciones (Selgrade, 2007).

Comparativamente con los factores de amenaza para la conservación arriba mencionados, las enfermedades solo representan el 2% dentro de los principales factores de amenaza para los mamíferos (IUCN, 2008), sin embargo se han observado disminuciones poblacionales severas para algunas especies de mamíferos, debido a éstos brotes (Schipper et al., 2008). Es factible que el relativamente bajo porcentaje obedezca a la falta generalizada de información sobre los agentes patógenos (en términos de su etiología, patofisiología, signología y prevalencia) en poblaciones silvestres, así como a los niveles de incertidumbre en los datos existentes que dificultan la obtención de un panorama fiable sobre el papel que desempeñan las enfermedades infecciosas sobre la extinción de las especies (Smith et al, 2009).

La realización de modelos matemáticos y epidemiológicos ha permitido el entendimiento del impacto de las enfermedades sobre las poblaciones (Anderson y May, 1992). Dichos modelos sugieren que por si solos los patógenos, no conducen a la extinción de las especies cuando su transmisión es denso-dependiente, es decir que su transmisión incrementa al aumentar la población y sugieren que los patógenos se perderán antes de que la población se extinga, debido a que la densidad de la población es llevada por debajo de un umbral crítico para la persistencia de la enfermedad (Smith et al, 2009).

Sin embargo, las enfermedades infecciosas pueden disminuir el tamaño de las poblaciones temporal o permanentemente (Smith et al, 2009), lo que puede predisponerlas hacia la extinción por medio de mecanismos como: a) estocasticidad demográfica o efecto Allee; b) enfermedades de transmisión frecuencia-dependiente,

como es el caso del tumor facial en el demonio de Tasmania (McCallum et al., 2007), parvovirus canino (Peterson et al. 1998), distemper en hurones (Thorne & Williams 1988) y en focas (J. L. Bengston et al., 1991, citado en Harvell et al., 1999) en donde la diseminación de la enfermedad depende no del número de individuos susceptibles o infectados, sino de la frecuencia de individuos infectados en la población, ejemplo de este tipo de transmisión son las enfermedades de transmisión sexual en donde la frecuencia-dependencia obedece determinados comportamientos sociales y territoriales (Altizer et al, 2003). Otro tipo de enfermedades con este tipo de transmisión, son aquellas que se transmiten por medio de vectores, especialmente por aquellos vectores que son eficaces para encontrar a sus hospederos y logran mantener una alta tasa de transmisión, aun cuando la población sea pequeña, por lo que este tipo de transmisión puede continuar hasta lograr la extinción de la población (Boots y Sasaki, 2003). Por último las c) enfermedades que puedan beneficiarse de otros hospederos o sobreviven y crecen en el ambiente con una alta incidencia independientemente de bajas poblacionales severas en la población hospederas locales también disminuir el tamaño de las poblaciones (Cuadro 2).

I.1.2. Enfermedades infecciosas y conservación biológica

Las enfermedades infecciosas juegan un papel importante en el mantenimiento de la viabilidad de las poblaciones silvestres, particularmente al relacionarse con factores antropogénicos. Tal es el caso de la aparición de deformaciones en los miembros posteriores en ranas, antes atribuido a la exposición a pesticidas y a la radiación UV, en los que la infección con *Ribeiroia ondatrae* resultó ser la causa de la malformación (Blaustein y Johnson, 2003; Johnson y Sutherland, 2003) y la frecuencia de malformaciones se encontró directamente correlacionada con la abundancia de *R. ondatrae* (Marcogliese, 2005). Posteriormente se estableció que la presencia de las malformaciones en anfibios era el resultado de una compleja interacción entre el parásito *Ribeiroia ondatrae*, el hospedero intermediario de dicho parásito (*Planorbella*) y los cambios antropogénicos asociados al aumento de la población del hospedero intermediario (Johnson y Chase, 2004).

Cuadro 1. Mecanismos por los cuales las enfermedades infecciosas pueden conducir a la extinción a poblaciones silvestres

Mecanismos	Factores predisponentes
Estocasticidad/poblaciones pequeñas	Tamaño de poblaciones pequeñas, previas a la enfermedad Poblaciones con baja densidad en equilibrio con una enfermedad presente Tamaño mínimo de población fluctuante Efecto Allee Endogamia Asociación de parásitos con la reducción de la fecundidad
Transmisión no-denso dependiente	Transmisión frecuencia-dependiente Enfermedades de transmisión sexual Enfermedades transmitidas por vectores Comportamiento social Dinámica espacial/metapoblaciones
Reservorios	Reservorios Bióticos: competidores aparentes Abióticos: factores ambientales que amplifican la enfermedad

Castro y Bolker, 2005

En las últimas cuatro décadas un gran número de enfermedades infecciosas han emergido en poblaciones de animales silvestres y humanos a nivel global (Daszak et al., 2000; Jones et al., 2007). Se han identificado 31 patógenos antes no descritos asociados con brotes epidémicos de enfermedades nuevas o emergentes (Dobson y Foufopoulos, 2001), la mayoría bacterias, virus y protozoarios y menos frecuentemente helmintos, priones y hongos. Algunos ejemplos de estas enfermedades emergentes incluyen el morbilivirus en mamíferos marinos (Osterhaus et al., 1989; Heide-Jorgensen et al, 1992), el incremento de brotes de enfermedades en arrecifes de coral (Harvell *et al.*, 2002), la

pandemia de quitridiomycosis ocasionada por el hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Daszak et al., 1999; Schloegel *et al.*, 2006; Skerratt et al., 2007) y la rápida diseminación de un tumor facial clonal contagioso en el demonio de Tasmania (Jones *et al.*, 2007). En algunos casos, como los observados para la población del buitre de Gyps (*Gyps fulvus*) cuya población se diezmó en casi un 90% (Prakesh, 1999) y la población de leones del Serengeti que ha disminuido en 20% (Roelke-Parker et al., 1996); se asocian los cambios poblacionales a enfermedades infecciosas que posiblemente han traspasado barreras geográficas e intercambiando huéspedes (Dobson y Foufopoulos, 2001), sin embargo, el agente etiológico aún no se ha identificado.

Los patógenos afectan de manera negativa la eficacia biológica (*fitness*) de los hospederos, disminuyendo notablemente la población de hospederos después de algún brote epidemiológico o a través de un ciclo poblacional dirigido por el parásito. En combinación con otros factores de extinción, como la fragmentación, puede incrementarse el riesgo de extinción de las especies debido a que a la larga, la fragmentación y falta de movimiento disminuye la variabilidad genética a lo largo de las generaciones, lo que a su vez incrementa la susceptibilidad de enfermedades infecciosas (Lyles y Dobson, 1993) y acrecienta así incrementa así la probabilidad de que ocurran procesos estocásticos que lleven a la extinción (McCallum y Dobson, 1995).

I.2. El sistema inmune de los hospederos

El reto representado por la aparición de enfermedades infecciosas en las poblaciones silvestres es contravenido por el funcionamiento del sistema inmune y respuestas de defensa por parte del hospedero, las cuales determinan su supervivencia. De manera general, los organismos vertebrados poseen tres distintas vías de defensa contra patógenos: a) barreras físicas, como la piel intacta, procesos mecánicos de limpieza (tos, estornudos, vómito, diarrea, etc) y la flora normal microbiana; b) procesos químicos (humorales) y celulares (e.g. neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células NK) de respuesta rápida y no específica, denominada respuesta inmune innata, (Roitt et al., 2001 y Collado, et al., 2008) que comparten organismos vertebrados e invertebrados, y c) la respuesta inmune adaptativa, que es un sistema complejo y sofisticado que proporciona el

último nivel de defensa del organismo, y está dividido en dos tipos de respuesta inmune, una mediada por anticuerpos y otra mediada por células (cuadro 3) (Tizard, 2009). Esta última respuesta inmune se encuentra restringida solo a animales vertebrados

Cuadro 2. Comparación entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa

	Inmunidad innata	Inmunidad adaptativa
Células implicadas	Macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células NK	Linfocitos T y B, células NK
Mecanismo de acción	Celular y complemento	Humoral
Inicio	Rápida (minutos-horas)	Lenta (días-semanas)
Especificidad	Estructuras microbianas comunes	Antígenos únicos
Memoria	Sí	Sí
Efectividad	No mejora	Mejora con la exposición

Modificado de Tizard, 2009

I.3. Endogamia y susceptibilidad a enfermedades infecciosas

El conocimiento de las bases genéticas de la eficacia biológica en poblaciones naturales ha sido un tema central de la biología evolutiva. Darwin señaló que bajo condiciones naturales las poblaciones están sujetas a diversas presiones de selección en donde los individuos con una mejor eficacia biológica serán los que tengan mayores posibilidades de sobrevivir. La supervivencia neonatal ha sido un parámetro clave de fuertes presiones de selección (Charlesworth, 1994 citado en Acevedo-Whitehouse, 2004), especialmente en poblaciones de grandes mamíferos, en los cuales las probabilidades de supervivencia del nacimiento al destete son bajas (Baker, 1984; Barlow y Boveng, 1991).

Una manera en la cual la variación genética puede afectar la supervivencia neonatal es a través de la depresión endogámica (O'Brien y Evermann, 1988). La endogamia es definida como el apareamiento entre individuos que comparten uno o más ancestros, lo

que conlleva a un incremento de la proporción de alelos homocigotos en la descendencia y que puede resultar en la disminución de la eficacia biológica (Wright, 1921 y Crow, 1948). Este fenómeno se conoce como depresión endogámica cuando ocurre en la población, de manera colectiva. Al incrementar la homocigosidad, la endogamia incrementa las probabilidades de expresión de alelos nocivos recesivos (Crow, 1948). Esto tiene implicaciones principalmente para aspectos de eficacia biológica como la supervivencia, la susceptibilidad a enfermedades y el éxito reproductivo, mismos que han sido demostrados en diversas especies (Reed y Frankham, 2003). Sin embargo, a pesar de que las consecuencias de la endogamia han sido bien documentadas en humanos y en animales domésticos se sabe relativamente poco de sus efectos en poblaciones naturales.

En 1875 George Darwin publicó un informe sobre la fertilidad y mortalidad asociadas a las uniones entre personas emparentadas, en el cual reportó una mayor mortalidad en la descendencia de matrimonios consanguíneos que en los matrimonios no consanguíneos. Posteriormente en 1902, Garrod encontró que de 18 casos de alcaptonuria diagnosticados en Europa y en Norte América, 12 de estos provenían de padre emparentados (primos). Estos primeros resultados fueron tomados como base por otros investigadores para la realización de predicciones sobre los efectos de la endogamia en grandes poblaciones de humanos e incluso en otras especies (ver Bittles y Marov, 1988 para una revisión bibliográfica).

Como se mencionó antes, los efectos de la endogamia en la supervivencia son consecuencia del incremento de la homocigosidad ya que permite la acumulación y expresión de alelos nocivos recesivos, que pueden generar desde discapacidades de visión y audición, hasta desordenes sistémicos que comprometen la supervivencia del individuo en un periodo posterior a la niñez. En este sentido, un matrimonio de individuos emparentados tiene una mayor probabilidad de heredar a sus descendientes los mismos alelos nocivos que los matrimonios de individuos no emparentados (Bittles y Neel, 1994).

En animales domésticos los efectos nocivos de la endogamia sobre la eficacia biológica y el desarrollo han sido reconocidos durante mucho tiempo. Los apareamientos entre animales emparentados tienen como resultado la producción de descendencia con menor eficacia biológica (Charlesworth y Charlesworth, 1987). Además, la endogamia tiende a resultar en la pérdida de vigor híbrido, disminución de la fertilidad y el incremento de la mortalidad juvenil en animales de laboratorio (Wright, 1977 y Festing, 1979), animales

domésticos (Lasley, 1978) y animales de zoológico (Slatis, 1960; Flesness, 1977; Bouman, 1977 y Ralls et al., 1979)

De manera histórica, la falta de evidencia sobre la depresión endogámica en poblaciones silvestres ha generado controversias sobre su relevancia evolutiva (Pusey y Wolf, 1996), ya que se argumenta que bajo condiciones naturales la endogamia no es común debido a mecanismos que la evitan, como la dispersión de machos después del nacimiento (Greenwood et al., 1978 y Gagneux et al., 1999). Además se ha argumentado que en los casos en los cuales ocurren apareamientos entre individuos emparentados, las mutaciones recesivas nocivas pueden ser depuradas por medio de la selección, por lo que se argumenta que la endogamia conduce a poca o nula reducción de la eficacia biológica (Barret y Charlesworth, 1991; Fowler y Whitlock, 1999). Por esto, el impacto de la endogamia en fauna silvestre no fue tomado en cuenta hasta 1979, en un estudio en donde se demostró que la endogamia disminuyó los niveles de supervivencia en crías de ungulados mantenidos en cautiverio (Ralls et al., 1979). Otro estudio realizado con primates, reportó una relación entre la homocigosidad y la mortalidad (Ralls y Ballou, 1981). Posteriormente se realizó un estudio para observar el efecto de la homocigosidad en la mortalidad juvenil en diversas especies silvestres y se reportó que la mortalidad era significativamente más alta en animales con mayor índice de homocigosidad (Rall y Ballou, 1982). El ejemplo emblemático sobre los efectos de la endogamia es el chita (*Acinonyx jubatus*), en los que se determinó que su supervivencia estaba comprometida debido a la pérdida de diversidad genética (Steinhart, 1992), y que derivó en un alto nivel de endogamia, sin embargo, posteriormente se observó que dentro de los mamíferos, los carnívoros presentan un menor grado de variabilidad genética, incluso aún menores que el del chita. Sin embargo los resultados son un tanto controversiales ya que mediante el uso de otras herramientas, tales como la asimetría fluctuante, se observó que el nivel de endogamia reportado no explicaría los efectos nocivos observados, sino que estos derivan de la pérdida del hábitat (Merola, 1994).

Los factores genéticos de los individuos pueden repercutir en la eficacia de su respuesta inmune, particularmente en términos de la endogamia (O'Brien y Evermann, 1988). Esto es porque diversos loci que median las defensas inmunes, tales como los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (Trowsdale y Parham, 2004) parecen depender de una amplia variación alélica (Klein, 1986 y Kurtz et al., 2004) y dicha

variación puede verse afectada en individuos endogámicos debido al incremento de la homocigosidad (O'Brien y Evermann, 1988 y Potts y Wakeland, 1990).

Una de las medidas útiles para determinar los niveles de heterocigosidad de manera individual es el grado de relación interna (IR "internal relatedness") por medio de la frecuencia de alelos de cada genotipo (Amos et al., 2001). Cuando éste factor es calculado a través de locus múltiples, el resultado del valor de IR es más o menos cercano a cero para la descendencia de padres no emparentados, mientras que valores por encima de cero, indica que la descendencia proviene de padre emparentados (Amos et al, 2001). Su cálculo se indicará en las siguientes secciones.

I.4. Estimaciones de heterocigosidad/homocigosidad

El coeficiente de parentesco (f) de un individuo se calcula como la probabilidad de que dos genes homólogos en un individuo sean idénticos por medio de la descendencia (Wright, 1922). Para determinar dicho coeficiente de parentesco, es importante elaborar un árbol genealógico o pedigrí de cada individuo y posteriormente analizar los ancestros que pudieran compartir los individuos. Sin embargo en poblaciones naturales es difícil detectar animales con endogamia, debido a que es algo que ocurre rara vez en muchas especies (Pusey y Wolf, 1996). Asimismo la constante migración de los individuos hace difícil la elaboración de registros que contengan el origen y el parentesco de cada individuo, para la elaboración precisa de un pedigree (Hansson y Westerberg, 2002). Por lo tanto ha surgido la necesidad de utilizar técnicas moleculares que permitan inferir, el grado de heterocigosidad como indicador indirecto de la endogamia para cada individuo.

I.4.1. Estimadores moleculares de endogamia

Se han publicado relativamente pocos trabajos sobre los efectos de la depresión endogámica en términos de resistencia a patógenos o respuesta inmune en poblaciones silvestres (Coltman et al., 1999; Casinello et al., 2001). Esto obedece en gran medida a

las dificultades para obtener datos detallados sobre enfermedades (Scott, 1988; Gulland 1997) y sobre el coeficiente de endogamia en poblaciones silvestres (Keller y Waller, 2002). En las últimas dos décadas los avances en genética molecular tuvieron un enorme impacto de aspectos de entender la genética de poblaciones (Sunnucks, 2000); estos avances incluyen el uso de la reacción de la polimerasa en cadena (PCR por sus siglas en inglés) para estudiar regiones evolutivamente conservadas como los microsatélites hipervariables (Sunnucks, 2000), que han permitido la estimación de los niveles de endogamia individuales dentro de poblaciones silvestres sin necesidad de tener información directa sobre su parentesco (Keller y Waller, 2002; Moore y Kukuk, 2002). Estas técnicas se basan en marcadores genéticos heredados que proveen información acerca de la variación alélica en determinados locus.

Los microsatélites son marcadores no codificantes abundantes y ubicados de manera relativamente uniforme en el genoma de los organismos eucariontes y algunos procariontes (Goldstein y Schlötterer, 1999). Se reconoce que son neutrales, aunque algunos pueden estar ligados a otras regiones genéticas funcionales que si estén bajo selección (Jarne y Lagoda, 1996). Típicamente los microsatélites son pequeñas secuencias de ADN no codificante repetidas en tándem donde cada unidad de repetición es de una a seis pares de bases de longitud (Tautz y Renz, 1984). Estos marcadores son de las secuencias más variables encontradas en el genoma con un polimorfismo derivado principalmente de la variabilidad en longitud más que en las secuencia primaria en sí misma (Ellegren, 2004). La mayoría de los microsatélites son altamente polimórficos, debido a que presentan altas tasas de mutación (entre 10^{-3} y 10^{-5} Edward et al., 1992; Bowcock et al., 1994 y Forbes et al., 1995).

En estudios en donde se utilizaron marcadores moleculares proteicos como aloenzimas (Lewontin y Hubby, 1966), se demostraron correlaciones entre la heterosis (ventaja de la heterocigosidad) y diversos componentes de eficacia biológica en diversos organismos (Mitton y Grant, 1984; Borrell et al., 2004). Sin embargo para que un marcador genético sea el adecuado para la estimación individual de la endogamia debe ser selectivamente neutro (es decir, no estar bajo selección). Por lo tanto, debido a que las aloenzimas son proteínas funcionales, están sujetos a selección (Jarne y Lagoda, 1996; Krieger y Ross, 2002). Por esto, es probable que los estudios que reportan asociaciones entre la heterocigosidad en las alozimas y algún aspecto de la eficacia biológica reflejen una sobredominancia funcional más que endogamia (Mitton, 1997; Hansson y Westerberg,

2002). Sin embargo el descubrimiento de marcadores de ADN, tales como microsatélites (Litt y Luty 1989, Tautz, 1989) han superado enormemente a las alozimas para la determinación de heterocigosidad.

I.4.2. Correlaciones heterocigosidad-eficacia biológica (HFC)

Algunos estudios recientes reportan que la estimación individual de la heterocigosidad mediante microsatélites aparentemente neutrales se correlaciona con componentes clave de la eficacia biológica a nivel de individuo, tales como la supervivencia (Coulson et al., 1999), fecundidad (Amos et al., 2001), resistencia a enfermedades (Coltman et al., 1999) y éxito reproductivo (Slate et al., 2000), así como con algunas características involucradas con la selección de pareja, como es el caso de las aves que seleccionan su pareja a través del canto (Marshall et al., 2003) y paternidad extra-pareja (Foerster et al., 2003). Aspectos relacionados con eficacia biológica como la supervivencia neonatal en el venado rojo *Cervus elaphus* (Coulson et al., 1998), la foca *Phoca vitulina* (Coltman et al., 1998) el murciélago de herradura *Rhinolophus ferrumequinum* (Rossiter et al., 2001) y la foca gris *Halichoerus grypus* (Bean et al., 2004); peso al nacimiento en el venado rojo (Coulson et al., 1998) y la foca (Coltman et al., 1998), carga parasitaria en la oveja de Soay *Ovis aries* (Coltman et al., 1999) y el lobo marino de California (Acevedo-Whitehouse et al., 2006), el éxito reproductivo en el venado rojo (Slate et al., 2000), el gallo lira *Tetrao tetrix* (Höglund et al., 2002) y la foca del Antártico *Pagophilus groenlandicus* han sido asociados con los niveles de heterocigosidad genética. No obstante, es difícil hacer inferencias y generalizaciones de dichas asociaciones estadísticas ya que la fuerza de las correlaciones puede verse afectada por condiciones ambientales (David y Jarne, 1997; Keller et al., 2002 y Myrand et al., 2002).

Uno de los estimadores moleculares de la endogamia es d^2 , una medida basada en microsatélites que toma en cuenta que los microsatélites divergen de manera que el cuadrado de la diferencia de longitudes entre los diferentes pares de alelos puede estar linealmente relacionado con un ancestro en común. De manera que el promedio del cuadrado de las diferencias en la longitud de los alelos en cualquiera de los loci un estimado de la similitud genómica entre los individuos (Goldstein et al., 1995 citado en

Slate y Pemberton, 1999), de manera general los individuos no heterocigotos tendrán un mayor valor de d^2 , mientras que individuos homocigotos tendrán menores valores para este estimador (Slate y Pemberton, 1999).

El segundo estimador de la endogamia comúnmente utilizado es la heterocigosidad estandarizada (SH por sus siglas en inglés) que es ponderada por la heterocigosidad esperada para cada valor de cada uno de los locus. La heterocigosidad estandarizada observada (SOH por sus siglas en inglés) es parecida a la anterior, sin embargo esta se basa en la heterocigosidad observada más que en la heterocigosidad esperada como un factor de normalización (Lyons et al., 2009).

Una de las medidas propuestas para determinar los niveles de heterocigosidad de manera individual es el grado de relación interna (IR “internal relatedness”) por medio de la fórmula (Amos et al., 2001):

$$IR = \frac{2H - \sum fi}{2N - \sum fi}$$

Donde:

H= número de locus que son homocigotos

N= número de locus

F_i = frecuencia de la i de los alelos que se encuentran en el genotipo

Los valores de IR van de -1 a 1, en donde individuos con un coeficiente cercano a -1 representan una alta heterocigosidad, mientras que individuos con valores cercanos a 1 presentan una alta homocigosidad (Amos et al., 2001).

La última medida utilizada, la heterocigosidad valorada mediante locus (HL) es parecida al IR, sin embargo este último subestima la heterocigosidad de individuos que portan alelos raros. Así, el HL evita este sesgo mediante el peso que contribuye a cada locus hacia el índice de homocigosidad según su variabilidad genética (Aparicio et al., 2006).

Aunque el número de estudios sobre la correlación de la endogamia con aspectos de eficacia biológica ha incrementado, sobre todo en parámetros relacionados con la

supervivencia y el éxito reproductivo, un aspecto importante a evaluar, y que aun permanece poco entendido, es si la capacidad de respuesta ante patógenos y procesos patológicos que pueden comprometer la supervivencia de un individuo, varia de acuerdo a sus niveles de heterocigosidad.

I.5. El lobo marino de California (*Zalophus californianus*)

El lobo marino de California, *Zalophus californianus*, pertenece al Orden Carnívora, Suborden Pinnipedia, Familia Otariidae (King, 1983). Su ámbito de distribución se extiende desde la Columbia Británica (Canadá) al norte, hasta las islas Marías (México) al sur incluyendo el Golfo de California (King, 1983; Zavala, 1990). Su población se estima entre 24,062-31,159 individuos distribuidos en mas de 30 islas e islotes en el Golfo de California (Szteren et al., 2006) y de 75,000 y 87,000 lobos en la costa occidental de la península de Baja California (Lowry y Maravilla-Chávez 2005 citado en INE, 2010).

Como todos los otáridos, *Z. californianus*, posee un cuerpo alargado, con el cuello delgado. Presentan oído externo, sus miembros anteriores son largos, y sus aletas están desprovistas de pelo (King, 1983). La especie exhibe un marcado dimorfismo sexual (Figura 3) (Odell, 1975); los machos llegan a medir hasta 2.4 m y pesan aproximadamente 300kg; las hembras alcanzan un peso de 150 kg con una longitud aproximada de 1.8m (Peterson y Bartholomew, 1967). Al nacer, las crías pesan entre 5.5 y 6.5 kg y miden alrededor de 70 cm. Su pelaje es de color café oscuro, ligeramente más claro en las hembras y juveniles. A diferencia de otras especies de otáridos, la cresta sagital externa de los machos adultos es prominente y muy desarrollada, al igual de los músculos del cuello. Emiten vocalizaciones cortas y de sonido grave (King, 1983).

De acuerdo con la distribución del lobo marino de California se identifican tres áreas de reproducción de ésta especie. La primera en Estados Unidos que se extiende desde Canadá hasta los límites de Estados Unidos y México, el segundo en el oeste de Baja California, que se extiende desde los límites de Estados Unidos y México hasta el extremo sur de la Península de Baja California y el tercero en el Golfo de California (Carretta et al, 2003). En el Golfo de California la población de *Z. californianus* está repartida en 13 colonias reproductivas (Cosang, San Jorge, Isla Lobos, Granito, Los Cantiles, Los

Machos, El Partido, El Rasito, San Esteban, San Pedro Mártir, San Pedro Nolasco, Farallón de San Ignacio, Los Islotes) (Szteren, 2006).



Figura 2. Características del dimorfismo sexual entre hembras y machos ¹

La especie es poligínica y lleva a cabo su reproducción en agua, tierra y pozas de marea periféricas a la colonia reproductiva. La duración de la estación reproductiva es aproximadamente de 10 semanas (Odell, 1975; García-Aguilar y Aurióles-Gamboa, 2003). Los machos establecen y defienden territorios y luego arriban las hembras, para parir una cría por año (Peterson y Bartholomew, 1967; Heath, 1989). Los nacimientos comienzan a fines de mayo y se extienden hasta fines de junio y las cópulas ocurren entre 15 y 21 días después. Unos 5 días después del parto las hembras comienzan sus viajes de alimentación, los cuales tienen una duración de 1.7 a 2 días para alimentar a sus crías (Heath, 1989; García-Aguilar y Aurióles-Gamboa, 2003). El periodo de lactancia dura de 6 meses hasta un año habitualmente, aunque puede prolongarse aún más (Aguayo-Lobo, 1991).

Debido al incremento de la población ésta especie se encuentra en la categoría 1 “no amenazado”, sin embargo en Estados Unidos a mediados del siglo XX se impulsó la

¹ En línea <http://www.oaxacadiaadia.com/?p=38656> [Pagina consultada el día 26 de octubre del 2012]

protección de sus poblaciones mediante el Acta de Protección a Mamífero Marino de 1972 (IUCN, 2009) y en aguas nacionales por la NOM-059-ECOL-1994. En el Golfo de California la población del lobo marino se encuentra amparada desde 1963 debido a que las islas del Golfo de California han sido declaradas “Zona de reserva y refugio de aves migratorias y fauna silvestre”. Desde al año 2000 esta zona se declaró “Área de Protección de Flora y Fauna, Islas del Golfo de California (SEMARNAP, 2000).

I.6. Enfermedades que afectan al lobo marino de California

Al igual que todas las especies, los pinnípedos interactúan con agentes bacterianos, parasitarios, micóticos y virales, sin embargo, los factores involucrados en la triada epidemiológica (huésped-ambiente-agente) son los que determinan que ocurran o no las enfermedades. No obstante, se ha observado que las enfermedades provocadas por bacterias han tendido a ser la principal causa de muerte en pinnípedos silvestres (Dunn, 1990). Así mismo, al interactuar con otros agentes patógenos potencian la probabilidad de muertes en los individuos afectados (SEMARNAT, 2000).

Una de las enfermedades bacterianas más importantes en los lobos marinos es leptospirosis, causada por una espiroqueta del género *Leptospira*, cuyos primeros brotes comenzaron aproximadamente en 1970 en las costas de Oregon y California, EEUA (Gilmartin et al., 1976). Estos brotes se caracterizaron por un aumento en la tasa de mortalidad al nacimiento y partos prematuros; las crías que lograban nacer vivas, mostraban una disminución en la actividad motora, respiración superficial y muerte dentro de los primeros minutos u horas (Gilmartin et al., 1976). En animales adultos el grado de lesiones depende de la susceptibilidad de éstos a las toxinas y enzimas producidas por la serovariedad infectante. Durante infecciones crónicas o subclínicas se presenta mastitis, disminución de la producción láctea, abortos después del tercer mes de gestación, mortinatos, nacimientos de crías débiles e infertilidad (Heath y Johnson, 1994). Mientras que en infecciones agudas los animales presentan depresión, fiebre, anorexia, hemorragias generalizadas, anemia hemolítica, insuficiencia hepática y renal, conjuntivitis, mialgia y a menudo meningitis (Carter, 1985).

Otra enfermedad relevante es la brucelosis ya que se han detectado anticuerpos contra *Brucella* en mamíferos marinos del océano Pacífico (Nielsen et al., 2001). En el caso del

lobo marino ha sido aislada en hembras que han sido sometidas a un programa de rehabilitación (Gulland, citado en Johnson, 2006), sin embargo para el lobo marino, la incidencia de *Brucella* aún no es clara. Otras enfermedades bacterianas, como la ocasionada por *Salmonella*, no son muy frecuentes en el lobo marino de California, sin embargo, existen algunos reportes de brotes en crías de la Isla de San Miguel, California (Gilmartin et al., 1979, citado en Smith et al., 2002).

Otras especies de bacterias aisladas en el lobo marino que pueden estar como parte de la flora normal se encuentran estafilococos spp., estreptococos beta hemolíticos, *pesudomonas* spp., *Edwardsiella* spp., *Arizona* spp, *Corynebacterium* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma* spp (Higgins, 2000).

Entre los macroparásitos helmintos, en particular el género *Uncinaria* puede ocasionar problemas severos para las poblaciones de lobo marino de California. El nematodo hematófago *Uncinaria* es uno de los patógenos más importantes para las crías de lobo marino de California en las islas de San Miguel y San Nicolás, EEUUA, tanto en términos de su virulencia como de su prevalencia (Lyons et al., 1997), con una tasa de mortalidad de más del 40% y prevalencia del 100% en algunos años (Lyons et al., 2001). Las crías afectadas exhiben una pobre condición corporal, letargia, anemia severa a pesar de una buena alimentación, una moderada enteritis hemorrágica, lesiones ocasionadas por la penetración de la pared del intestino delgado, peritonitis y bacteriemia (Sparker et al., 2004).

Hay otros parásitos helmintos que son relevantes para la especie. Por ejemplo, existen reportes de úlceras duodenales, peritonitis y muerte causadas por el nemátodo *Contracaecum corderi* (Fletcher et al., 1998 citado en Dailey, 2001). Asimismo, el sistema respiratorio es afectado frecuentemente por el nematodo *Parafilaroides decorus*, causante de neumonía verminosa (Fletcher et al., 1998 citado en Dailey, 2001). Algunas veces los animales no presentan signos clínicos aparentes, mientras que en algunas ocasiones presentan tos, expectoraciones, disfagia y ocasionalmente deriva en la muerte de manera aguda a la presentación de los signos (Fleischman y Squire, 1970).

La mayoría de los reportes sobre infecciones con agentes micóticos en pinnípedos indican que los hongos son patógenos oportunistas o invasores secundarios que afectan a individuos con un funcionamiento inmune subóptimo, por lo que su presencia puede servir como indicador del estado de salud de los lobos marinos (Gulland y Hall, 2007). Algunos

de los agentes micóticos reportados en lobos marinos y otros pinnípedos son *Candida reukaufi*, *C. pityrosporum* y *C. albicans* (Dunn, 1990 citado en SEMARNAT, 2000)

En las últimas décadas, se ha reportado una alta y creciente incidencia de casos de carcinoma urogenital en el lobo marino de California. Esta neoplasia afecta el pene, prepucio, vagina, cérvix y útero de manera primaria, aunque son frecuentes las metástasis. En la necropsia es frecuente observar nódulos caseosos metastásicos en glándulas adrenales, riñones, útero, hígado, nódulos linfáticos sublumbar, pulmones, bazo, mediastino, nódulos linfáticos abdominales y torácicos, omento, páncreas, pericardio y miocardio (Gulland et al., 1996). Si bien la etiología del carcinoma urogenital es multifactorial, su ocurrencia se ha asociado a la presencia de un herpesvirus denominado Otarine herpesvirus-1 (OTHV-1; King et al., 2002). También se ha observado una relación con altas concentraciones de compuestos bifenil policlorados (PCB) (Ylitalo et al., 2005), hormonas reproductivas (Colegrove et al., 2009) y factores genéticos (Acevedo-Whitehouse et al., 2003; Bowen et al., 2005), y las enfermedades bacterianas parecen ser un cofactor para la presentación de este carcinoma, como es el caso de los estreptococos Beta hemolítico (Johnson et al., 2006).

La presencia de ácido domóico, una potente neurotoxina producida por algunas especies de diatomeas del género *Pseudonitzschia* ha sido cada vez más frecuente a lo largo de la costa de California (Allen, 1992 citado en Goldstein et al., 2008) y ha sido asociado con signos neurológicos en aves marinas y en el lobo marino de California (Scholin et al., 2000). En 1998 se reportaron más de 400 lobos marinos expuestos al ácido domóico mediante la ingestión de presas contaminadas, tales como sardinas, anchoas y fitoplancton. Las lesiones *postmortem* encontradas estuvieron relacionadas al sistema límbico caracterizada por isquemia neuronal, necrosis en la zona del hipocampo y una pérdida progresiva neuronal con atrofia del parénquima y una marcada gliosis (Silvagni et al., 2005), los signos clínicos observados en animales vivos, en algunos casos es un síndrome crónico epiléptico caracterizado por cambios del comportamiento, convulsiones, en intoxicaciones agudas los animales presentan ataxia, convulsiones o coma, este cuadro varía de acuerdo a la severidad de la intoxicación (Goldstein et al., 2008).

I.7 Programas de rehabilitación en el lobo marino de california

Uno de los medios por los cuales se ha obtenido información sobre aspectos clínico patológicos en algunas especies de mamíferos marinos ha sido a través de programas de rehabilitación. La rehabilitación tiene como objetivo proporcionar atención profesional a animales enfermos, heridos o huérfanos, y posteriormente liberarlos a su hábitat natural. De forma tradicional rehabilitación involucra aspectos de rehabilitación física y psíquica, en el cual se debe de lograr en el individuo un estado, el cual le permita sobrevivir y tener un buen estado fisiológico (Nuñez et al en línea)

La rehabilitación en animales silvestres de manera inicial se dio en países desarrollados (Williams T. D., 1990), sin embargo esto se ha ido ampliando en distintos puntos a nivel mundial. No obstante los centros y programas de rehabilitación se enfrentan a diversos aspectos como a) económicos, en donde los costos de rehabilitación, reintroducción y liberación de las especies son bastante altos, b) diferencias de prioridades políticas, c) aspectos culturales que valúan de manera diferentes la importancia entre especies, d) especies amenazadas o en peligro de extinción y e) aspecto de salud en las poblaciones humanas (Karesh W. B. 1995) y ha sido tema de debate sobre la importancia de la rehabilitación en especies silvestres.

Algunos centros de rehabilitación en mamíferos marinos que actualmente prestan servicios son, La Organización Científica para la Conservación de Animales Acuáticos (ORCA), Vancouver Aquarium: Marine Mammals Rescue Centre, Marine Mammals Conservancy y The Marine Mammal Center (TMMC). De estos fue en este último centro donde se realizó una investigación sobre los efectos que la endogamia puede ejercer sobre la susceptibilidad a enfermedades infecciosas en poblaciones silvestres. Específicamente se realizó un estudio con lobos marinos de California (*Zalophus californianus*) varados en las costas de California, que fueron trasladados a un centro de rehabilitación de mamíferos marinos (TMMC). Para la determinación de niveles de heterocigosidad individual que a su vez sirvieran, como estimador de la endogamia, se utilizaron marcadores microsatélites de ADN con alto polimorfismo, y se obtuvo el grado de IR (Amos et al., 2001).

Este estudio mostró que la endogamia varió significativamente entre las enfermedades, (Figura 2) y la respuesta inmune a diversos patógenos pareció estar influenciada por los

niveles de heterocigosidad (Acevedo-Whitehouse et al., 2003). De manera exploratoria, otros datos reportaron una relación entre los niveles de heterocigosidad con el tiempo de rehabilitación, lo que sugiere que a los individuos con mayor nivel de heterocigosidad les toma más tiempo recuperarse, lo que podría implicar un mayor costo de tratamiento y rehabilitación. Así mismo, cuando estos individuos sean liberados pudieran funcionar como reservorios de agentes infecciosos (Acevedo-Whitehouse, 2004). De comprobarse esta hipótesis, la endogamia puede ser un factor de alta relevancia para programas de conservación, rehabilitación y manejo.

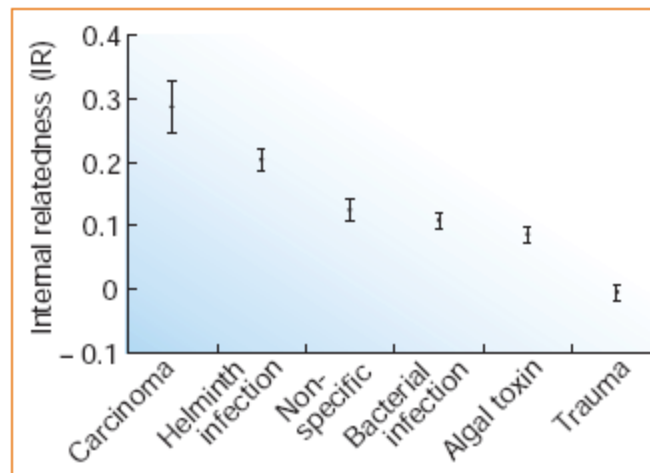


Figura 3 Nivel de endogamia promedio (indicado como Índice de Relación Interna, IR) por categoría de enfermedad en lobos marinos de California, *Zalophus californianus*. Imagen tomada de Acevedo-Whitehouse et al., 2003).

Con base en lo anterior, la presente tesis se basa esos hallazgos y plantea investigar el efecto de la heterocigosidad sobre el tiempo que estos individuos pasan en rehabilitación previo a su liberación.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los aspectos que pueden verse afectados a consecuencia de la endogamia en poblaciones silvestres es la respuesta inmune, lo que incrementa la susceptibilidad a patógenos, y potencialmente reduce la duración y respuesta ante tratamiento de rehabilitación. Si la endogamia incrementa la susceptibilidad a enfermedades en el lobo marino de California (Acevedo-Whitehouse et al., 2003, 2005), es de suponer que la mayor parte de los animales varados por enfermedad tendrán un alto nivel de endogamia. De ser así, el tratamiento de rehabilitación se centraría en estos animales y su respuesta al tratamiento determinaría el costo del mismo, éxito futuro y, potencialmente su papel como fuentes o reservorios de enfermedad para la población. Por esto resulta relevante investigar el efecto de la heterosis en el éxito en la rehabilitación del lobo marino de California, una especie que funciona como un modelo silvestre ideal para responder preguntas relacionadas con enfermedades debido a la gran cantidad de información disponible, proveniente de animales varados y sometidos a rehabilitación. De encontrarse un efecto negativo significativo, esta información podría ser de utilidad para programas de conservación y manejo de especies de vida libre.

III. JUSTIFICACIÓN

La rehabilitación de animales silvestres tiene como objetivo brindar atención médica y cuidados necesarios para la recuperación médica de los animales, y finalmente devolverlos a su hábitat natural; sin embargo los recursos económicos disponibles son limitados, por lo que los programas deben de tomar decisiones acertadas sobre el aprovechamiento de los recursos. Si el aspecto genético es determinante para diversos aspectos de la rehabilitación, el conocimiento de estos permitirá tomar una decisión más informada sobre cuales individuos deben ser rehabilitados para lo que éste programa ofrezca un pronóstico favorable.

IV. HIPÓTESIS

Con la realización de esta tesis se pretende poner a prueba la hipótesis de que a menores niveles de heterocigosidad individual, para cada condición clínica identificada:

- H1)Aumenta el tiempo de rehabilitación
- H2)Incrementa la probabilidad de revaramiento posterior
- H3)Disminuye la probabilidad de supervivencia

V. OBJETIVO GENERAL

Investigar la relación que existe entre la heterocigosidad individual y el éxito de la rehabilitación en el lobo marino de California (*Zalophus californianus*) varados en las costas de California, EEUUA, utilizando la base de datos genéticos del laboratorio de Genética Molecular y Ecología Evolutiva de la Unidad de Microbiología Básica y Aplicada de la Universidad Autónoma de Querétaro, y que forman parte de un proyecto de investigación registrado ante la institución, a cargo de la Dra. Karina A. Acevedo Whitehouse.

VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Establecer relaciones entre los niveles de heterocigosidad de acuerdo con:

1. El tiempo que transcurren en rehabilitación
2. El riesgo de que animales liberados tras un periodo de rehabilitación vuelvan a varar
3. Su probabilidad de supervivencia

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con datos clínicos biológicos proporcionados por el Centro de Rehabilitación The Marine Mammal Center (TMMC) ubicado en Sausalito, California, EEUA. Los archivos, que abarcan animales ingresados entre 1999 y 2005, incluyen información sobre la identificación, sexo, edad, lugar y fecha de varamiento, diagnóstico, signos clínicos asociados y secundarios a la patología principal, exámenes clínico-patológicos, fecha de admisión al TMMC, fecha y condición de resolución.

La evaluación clínica de las especies se llevó a cabo por Médicos Veterinarios del TMMC como parte del proceso de rehabilitación de los lobos marinos de California. Todos los individuos se clasificaron por categoría de edad de acuerdo a características establecidas (Cuadro 4).

Cuadro 3 Clasificación de la edad del lobo marino de California de acuerdo a sus características morfológicas.

Categoría	Edad (años)	Características
Cría	0-1	Presenta una longitud de aproximadamente 80 cm y un peso en promedio de <10kg
Añero	Añero 1-2	Animales entre 1 y 4 año de edad e identificados por su masa y longitud corporal (>11kg y de 1 a 1.3m)
Juvenil	Juvenil macho 2-4	
Subadulto	Juvenil o subadulto hembra 2.5	
	Subadulto 4-8	
Adulto	Macho >8	Hembras adultas definidas como animales sexualmente maduros de más de 5 años de edad y una longitud de 1.4-1.8m y un peso promedio de 120 kg. Los machos adultos caracterizados por la presencia de una cresta sagital y una longitud corporal de 2-2.4m ² y un peso en promedio de 400 kg.
	Hembra >5	

Fuente: Greig et al., 2005; Allen et al., 2011

² <http://www.seaworld.org/animal-info/info-books/california-sea-lion/physical-characteristics.htm> [Citado el 27 de noviembre del 2012]

De cada individuo que ingresó a rehabilitación se obtuvieron muestras para hematología, química sanguínea y examen coproparasitoscópico. La toma de muestras de tejidos para estudios de histopatología y exámenes microbiológicos se realizaron en lobos marinos que murieron durante su rehabilitación o que fueron sacrificados debido a su condición clínica.

Para cada individuo se cuenta con información sobre su coeficiente de IR que se calculó mediante el uso de 11 marcadores neutrales (microsatélites) de alto polimorfismo. El genotipificado se realizó previamente como parte de un proyecto sobre los niveles de endogamia en el lobo marino de California (Acevedo-Whitehouse, 2004). Los datos genéticos estuvieron disponibles para la presente tesis.

VIII. ANÁLISIS DE DATOS

La base de datos se dividió en dos partes, la primera es clínico-biológica, la cual contiene datos de sexo, edad, causa de varamiento, estudios realizados, signos clínicos y lugar varamiento, fecha de admisión salida y resolución para cada lobo. Se estudiaron cada uno de los casos clínicos y se clasificaron en 8 categorías de patologías como causa de varamiento y 16 procesos concomitantes (Cuadro 5).

En la parte genética de las base de datos se encontraron 11 pares de microsatélites que se amplificaron para cada individuo, para calcular el IR, se utilizó el programa IRmacroN4 (Amos et al., 2001).

Se realizó estadística descriptiva clásica para determinar la distribución de las variables. Una vez determinado el tipo de distribución se procedió a transformar los datos si era necesario.

Para investigar la relevancia de IR sobre el tiempo de rehabilitación se corrieron regresiones lineales para cada condición clínica, tomando en cuenta solo aquellos individuos que fueron liberados. Para determinar si IR influye sobre la probabilidad de volver a varar se construyó un modelo lineal. Para establecer si existe una relación entre IR y la probabilidad de supervivencia de los individuos se realizó una ANOVA para cada condición clínica, tomando en cuenta la resolución que tuvieron. Por último para determinar si existe una relación entre IR la presencia de procesos concomitantes se

construyeron modelos lineales. En todos los casos, se determinó la significancia estadística como $p < 0.05$. El paquete estadístico utilizado fue R versión 2.15.1.

Cuadro 5 Descripción de datos clínico-biológicos de los lobos que fueron sometidos a rehabilitación

Datos clínico-biológicos	Descripción
Edad	Cría Añero Juvenil Subadulto Adulto
Sexo	Hembra Macho
Causa de varamiento	Bacterianas Leptospirosis Parásitos Trauma Carcinoma Intoxicación con ácido domóico No determinadas
Fechas de ingreso y egreso	Día/mes/año
Lugar de varamiento	Sitio
Resolución	Liberado Eutanasiado Muerto durante el tratamiento
Procesos concomitantes	Desnutrición Parásitos Infección Virus Trauma Hemorragia interna Neoplasia Intoxicación con ácido domóico Signos neurológicos Septicemia Úlceras Abscesos Hepatitis Proceso inflamatorio Oculares Leptospirosis

IX. RESULTADOS

X.1.ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

El cuarenta y dos por ciento de los 1238 individuos incluidos en el estudio fueron hembras y el 58% fueron machos (Figura 4)

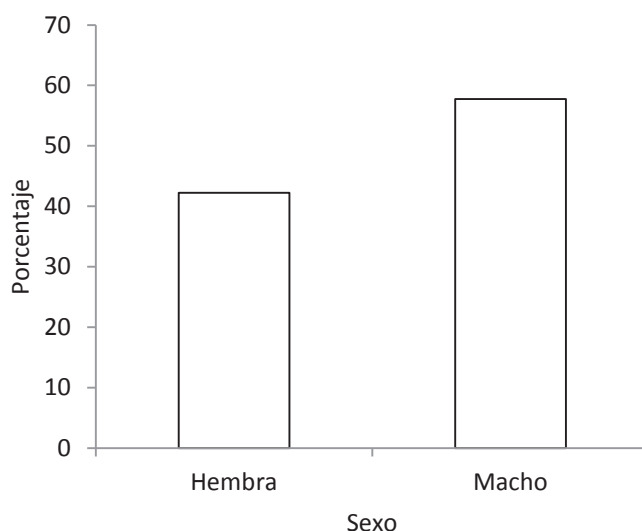


Figura 4. Porcentaje de lobos marinos incluidos en el estudio de acuerdo al sexo

De acuerdo con las edades de los lobos marinos, los adultos y añeros estuvieron más representadas (28% y 25% respectivamente) entre los animales varados, mientras que las crías fueron las que menos frecuentes (Figura 5)

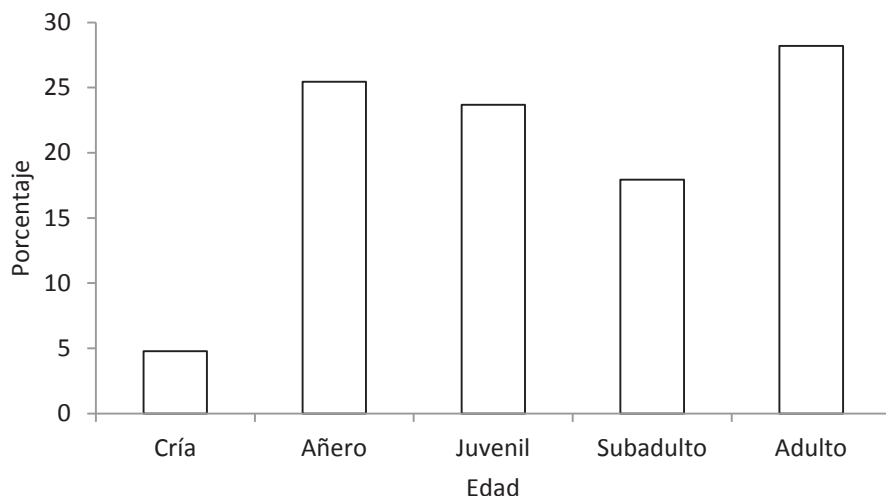


Figura 5. Porcentaje de individuos por categoría de edad

De acuerdo los diagnósticos que fueron determinados como causa de varamiento de los lobos, se observó que leptospirosis (n=321) e intoxicación con ácido domóico (n=319) presentaron una mayor prevalencia (26% en ambas categorías), mientras que las enfermedades bacterianas y parasitarias fueron menos comunes (4% y 5% respectivamente) (Figura 6).

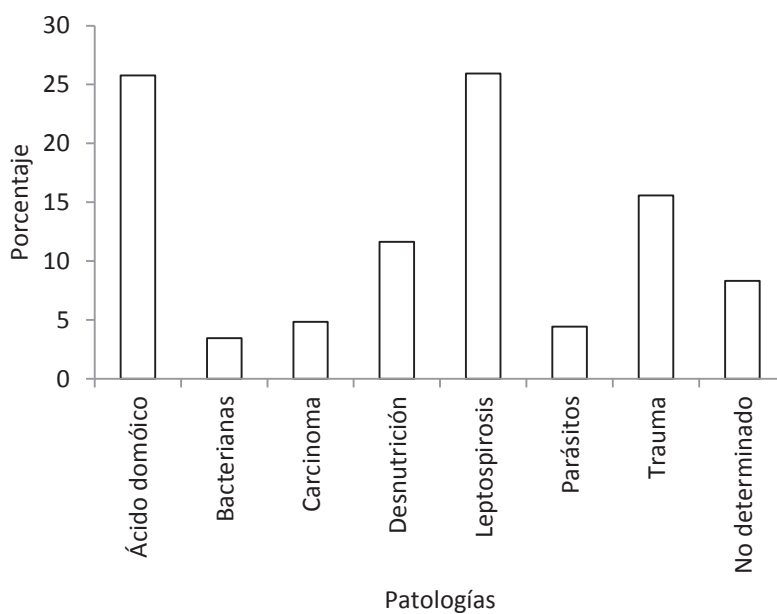


Figura 6. Porcentaje de individuos de acuerdo con el diagnóstico de varamiento

El mayor porcentaje de individuos que fueron sometidos a un tratamiento de rehabilitación murieron durante el tratamiento (42%), mientras que el menor porcentaje estuvo representado por aquellos que fueron eutanasiados (19%) (Figura 7).

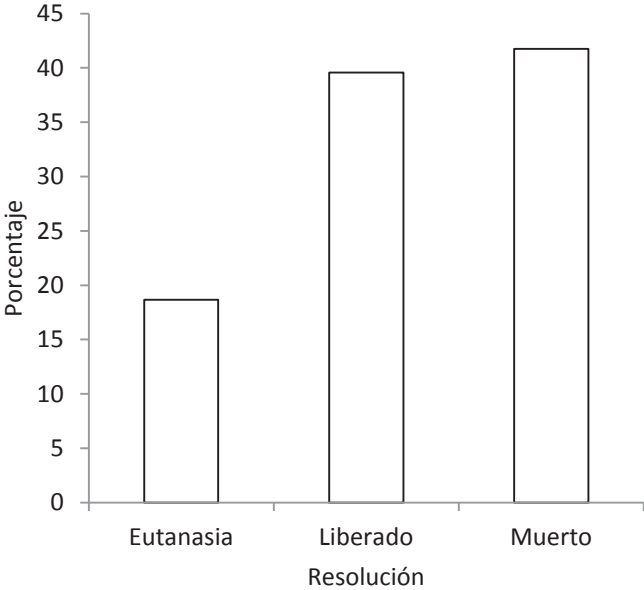


Figura 7. Porcentaje de individuos de acuerdo a la resolución

Los sitios más comunes en los que los lobos vararon fueron los municipios de Monterey (26%) y San Luis Obispo (31%), mientras que Sacramento (0.08%), Ventura (0.9%), Alameda (0.60%) y Contra Costa (0.50%), fueron los sitios con un menor número de varamientos (Figura 8).

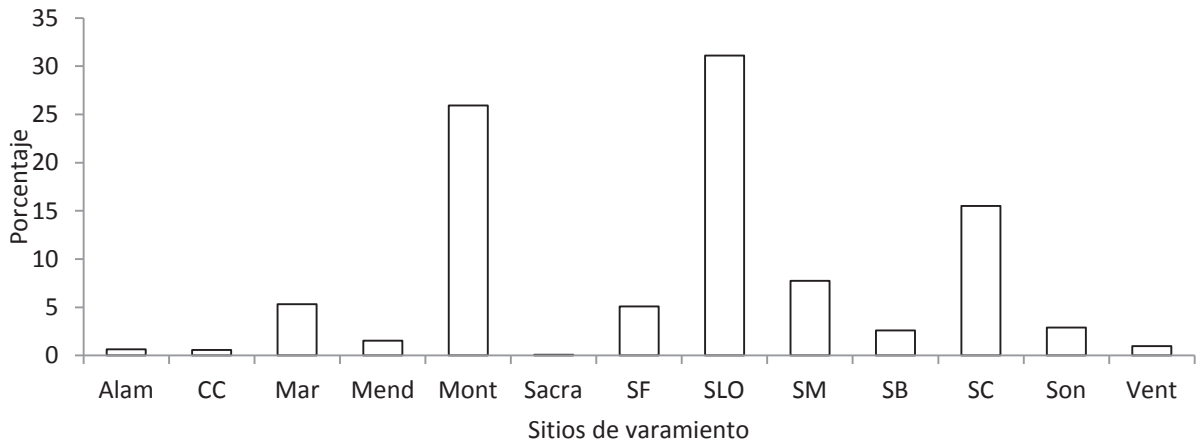
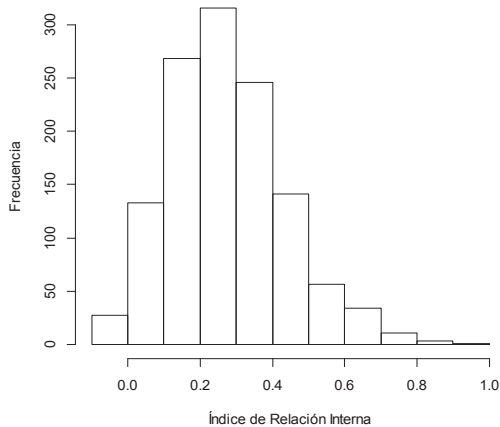


Figura 8. Sitios de varamiento: (Alam) Alameda, (CC) Contra Costa, (Mar) Marin, (Mend) Mendocino, (Mont) Monterey, (Sacra) Sacramento, (SB) Santa Barbara, (SC) Santa Cruz, (SF) San Francisco, (SLO) San Luis Obispo, (SM) San Mateo, (Son) Sonoma, (Vent) Ventura. En California, EEUUA.

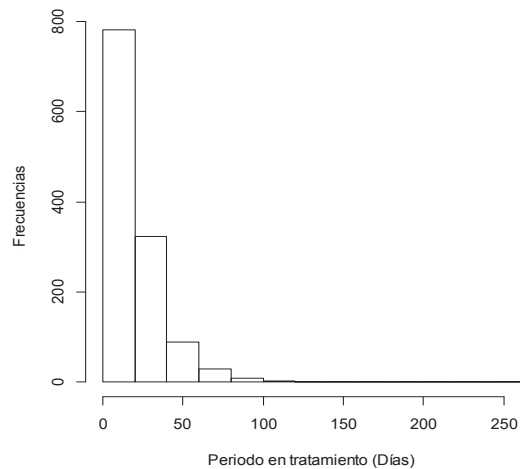
De acuerdo con el histograma de frecuencia y las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks que se realizaron para los datos de IR y para los días que duraron las rehabilitaciones, se observó que los datos no presentaron una distribución normal (Figura 9 a y b)

a)



Prueba de normalidad Shapiro-Wilk
 $W=0.9665$, $p=2.55 \times 10^{-16}$

b)



Prueba de normalidad Shapiro-Wilk
 $W=0.7833$, $p=2.2 \times 10^{-16}$

Figura 9. Histogramas de frecuencia para a) el índice de relación interna y b) periodo de tratamiento en días.

X.1.2. DURACIÓN DE LA REHABILITACIÓN

Se presentan los resultados de los modelos lineales para la relación de IR con respecto a la duración de rehabilitación para cada condición clínica. Se tomaron en cuenta únicamente a los lobos marinos que no fueron sacrificados ni que murieron durante el tratamiento. Estos se comportaron de manera distinta entre las condiciones clínicas como se presenta abajo.

Para los lobos marinos libreados que habían varado debido a intoxicación con ácido domóico (n=189), leptospirosis (n=82), desnutrición (n=82), trauma (n=77) y causas no determinadas (n=15) no se observó relación entre IR y el tiempo en rehabilitación (Figuras 10 a 14). Mientras que para los lobos marinos que vararon debido a enfermedades bacterianas (n=14) conforme aumenta el valor de IR, disminuye el tiempo que pasan en rehabilitación (Figura 15). En contraste, para los lobos marinos diagnosticados con enfermedades parasitarias (n=30) se observó que conforme aumenta los niveles de IR aumenta el periodo que los lobos pasan en rehabilitación (Figura 16).

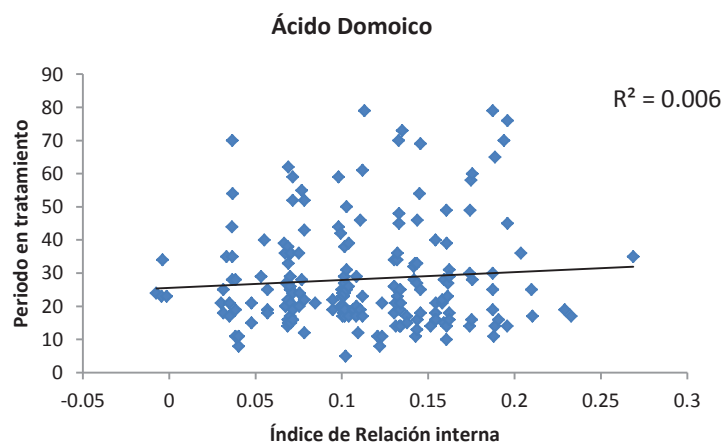


Figura 10. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a intoxicación con ácido domóico. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

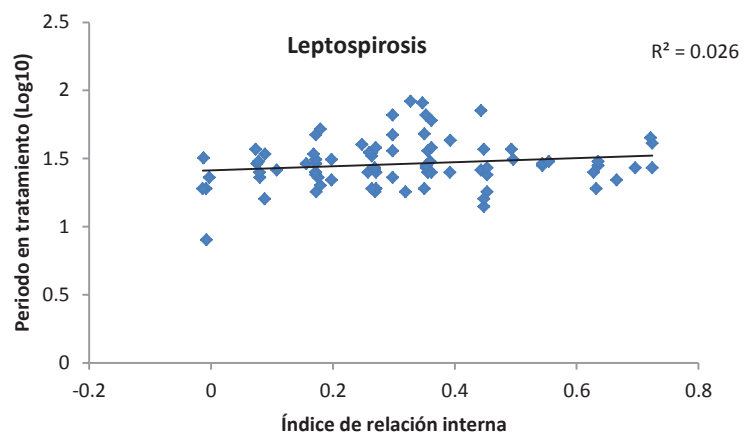


Figura 11. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos que vararon debido a leptospirosis. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

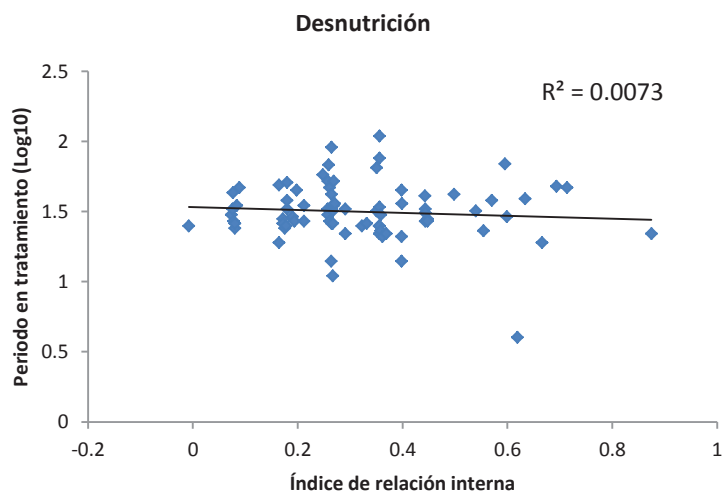


Figura 12. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a desnutrición. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

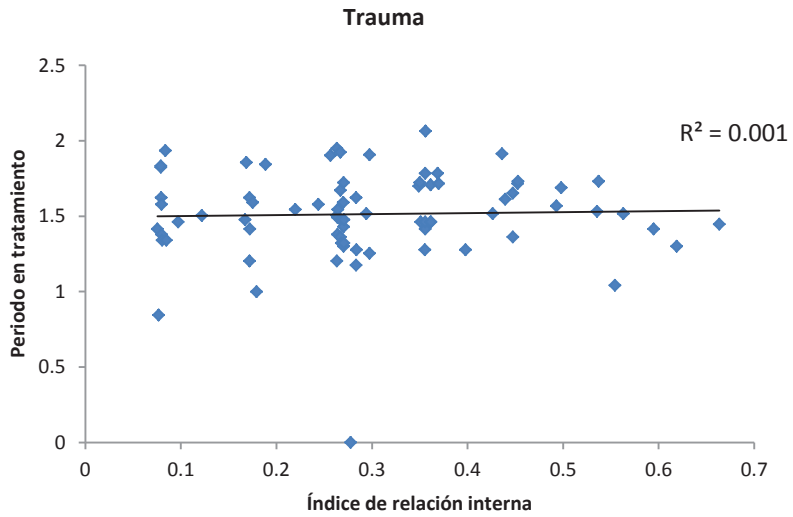


Figura 13. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a trauma. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

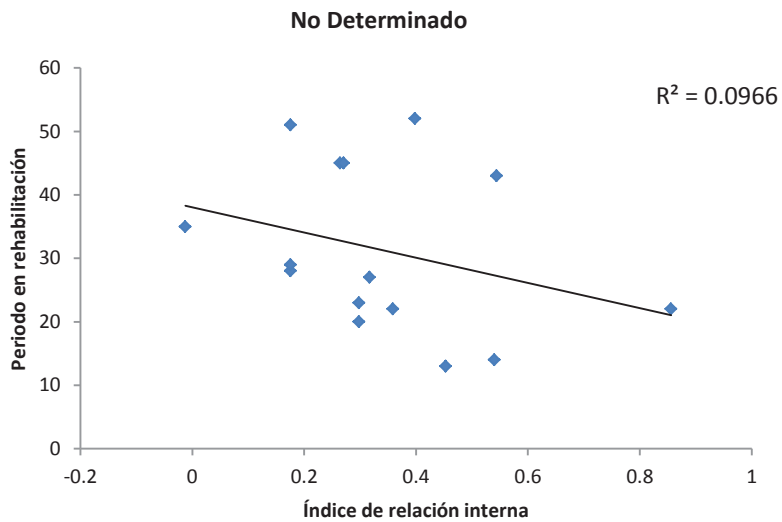


Figura 14. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos para los cuales las causas de varamiento no fueron determinadas. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

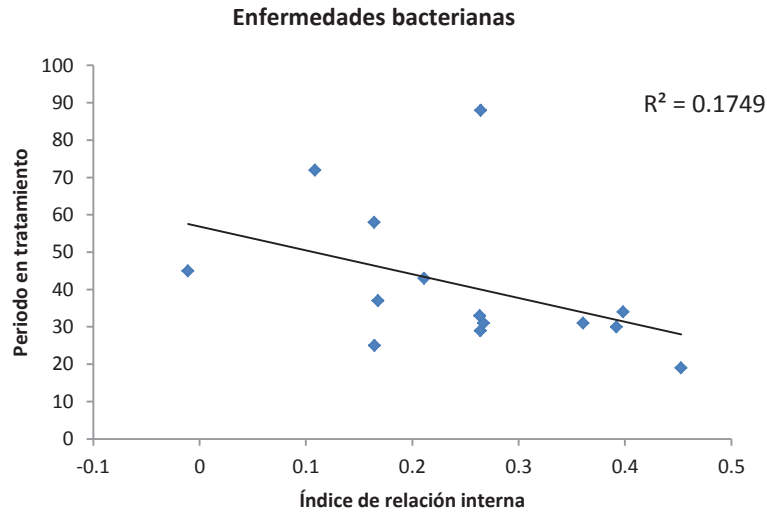


Figura 15. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a enfermedades bacterianas. La relación entre las variables fue significativa ($p < 0.05$).

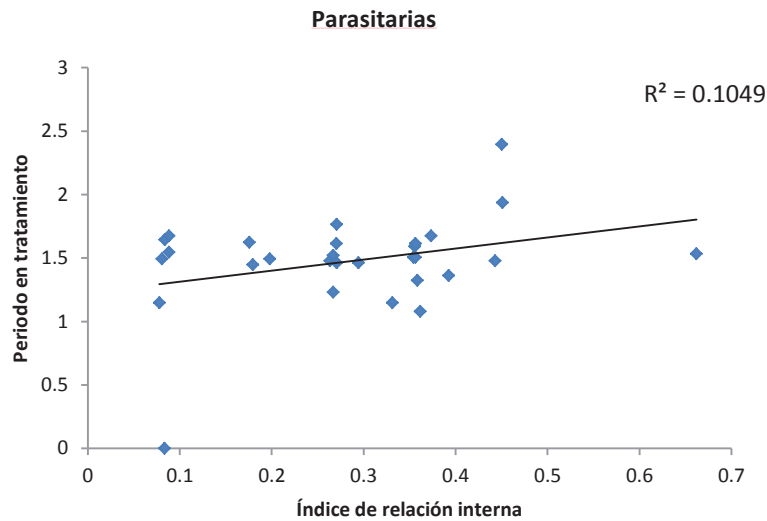


Figura 16. Relación entre IR y periodo en tratamiento para lobos marinos que vararon debido a enfermedades parasitarias. La relación entre las variables fue significativa ($p < 0.05$).

X.1.3. PROBABILIDAD DE SUPERVIVENCIA

Se presentan los resultados obtenidos de los Análisis de Varianza para investigar la diferencia en los promedios de IR por resolución de la rehabilitación, para cada condición clínica. No se encontraron diferencias estadísticas en los valores de IR para animales liberados, eutanasiados o muertos durante el tratamiento para enfermedades bacterianas (ANOVA: $F_{2,42}=0.534$, $P= 0.59$; Figura 17), intoxicación con ácido domóico (ANOVA: $F_{2,320}=0.366$, $P= 0.693$; Figura 18), desnutrición (ANOVA: $F_{2,143}=0.615$, $P= 0.541$; Figura 19), infecciones parasitarias (ANOVA: $F_{2,54}=0.362$, $P= 0.697$; Figura 20), trauma (ANOVA: $F_{2,192}=0.212$, $P= 0.808$; Figura 21) y condición clínica desconocida (ANOVA: $F_{2,102}=1.80$, $P= 0.170$; Figura 22). En contraste, para animales que vararon debido a leptospirosis, se observaron diferencias estadísticas en IR entre los tres tipos de resolución (ANOVA: $F_{2,320}=3,25$, $P= 0.039$; Figura 23).

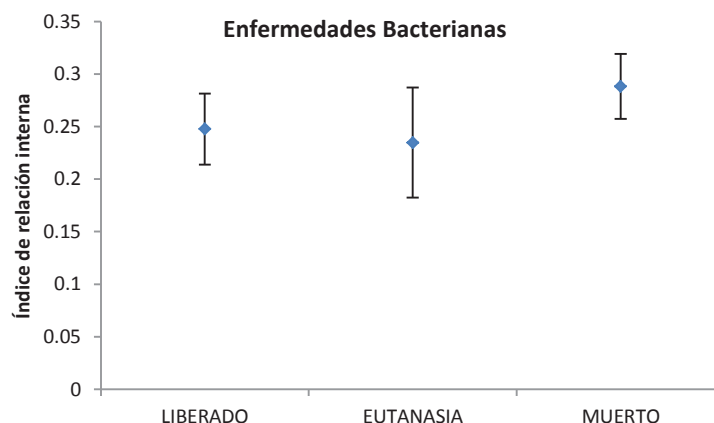


Figura 17. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para enfermedades bacterianas. La diferencia entre las medias no es significativa ($p>0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

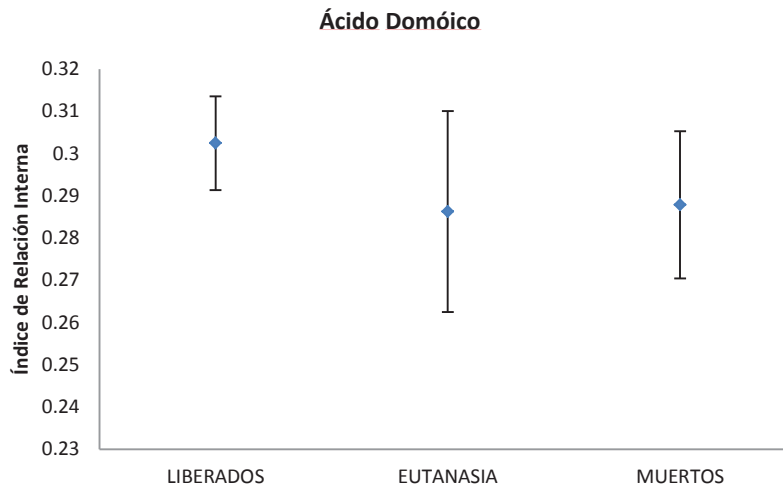


Figura 18. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para intoxicación con ácido domóico. La diferencia entre las medias no es significativa ($p > 0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

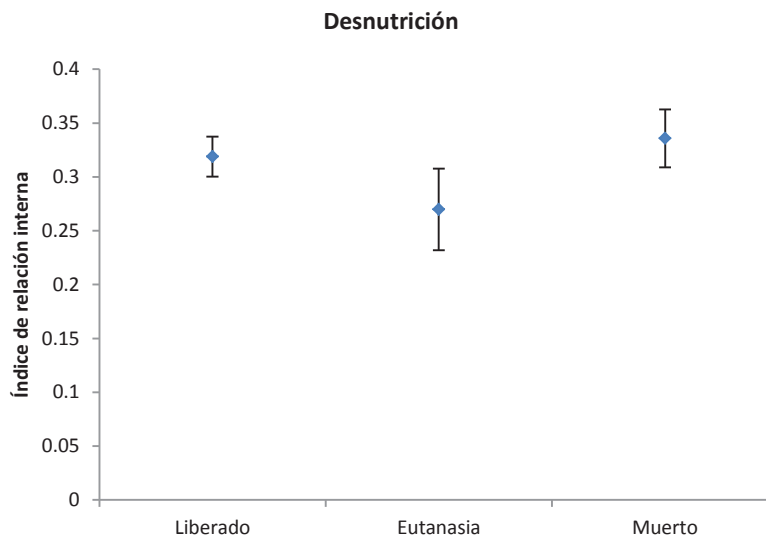


Figura 19. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para desnutrición. La diferencia entre las medias no es significativa ($p > 0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

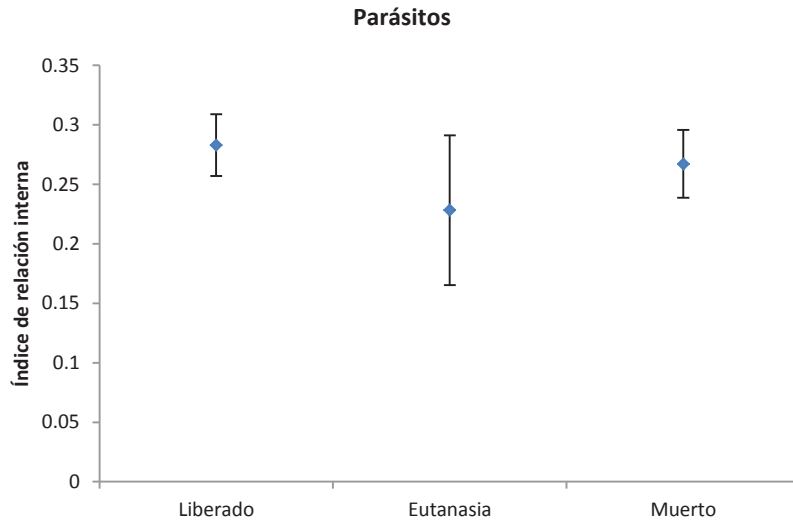


Figura 20. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para enfermedades parasitarias. La diferencia entre las medias no es significativa ($p > 0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

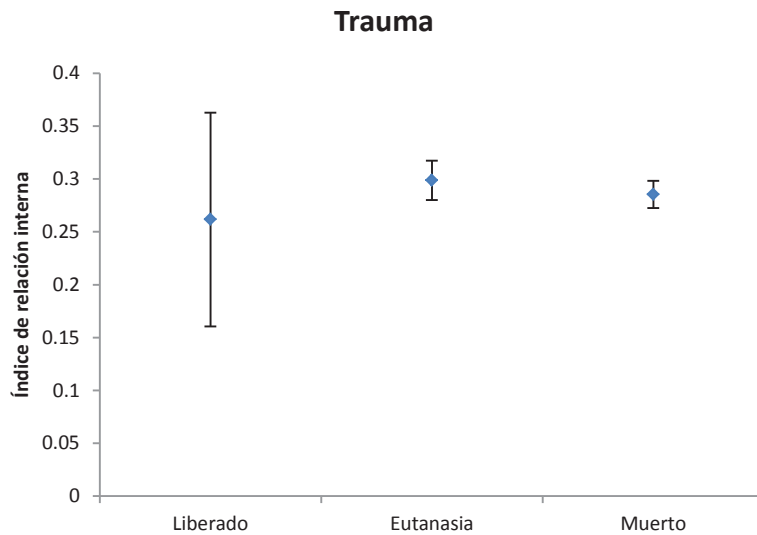


Figura 21. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para trauma. La diferencia entre las medias no es significativa ($p > 0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

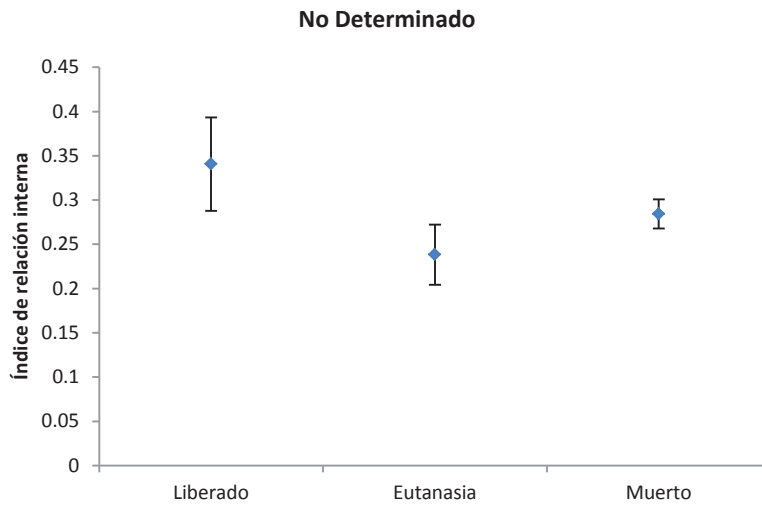


Figura 22. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para enfermedades no determinadas. La diferencia entre las medias no es significativa ($p > 0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

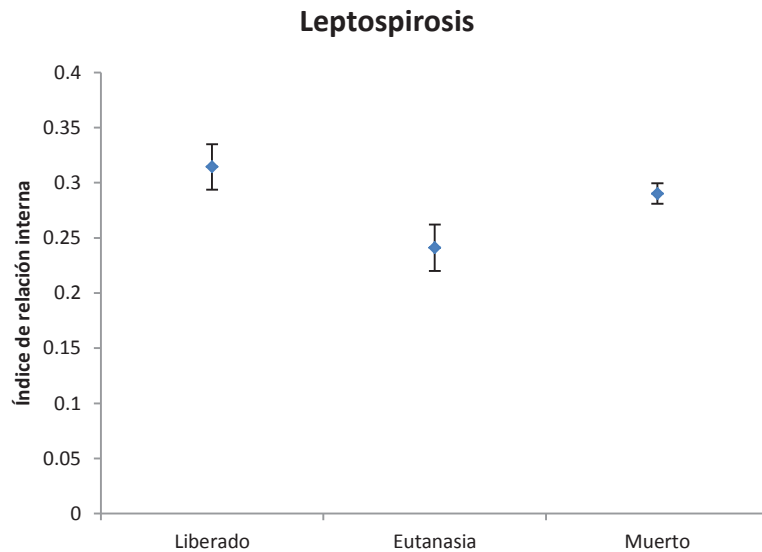


Figura 23. Niveles de IR de acuerdo con cada tipo de resolución para leptospirosis. La diferencia entre los grupos es significativa ($p < 0.05$). Las barras corresponden a ± 1 error estándar.

X.1.4. PROBABILIDAD DE VOLVER A VARAR

Para determinar si IR determina la probabilidad de volver a varar, se construyó un modelo lineal generalizado que tomaba en cuenta la condición clínica, la edad y el sexo. Se encontró que IR no explicaba de manera significativa la probabilidad de volver a varar (Cuadro 6).

Cuadro 6. Parámetros del Modelo generalizado lineal para examinar la importancia de IR en la probabilidad de volver a varar. GL=Grados de libertad, DE= Desviación estándar. El valor de P se calculó mediante una prueba de Chi-cuadrada.

	GL	DE	P>Chi
IR	1236	152.28	0.3022

X.1.5. PROCESOS CONCOMITANTES

Para los individuos que vararon debido a con intoxicación con ácido domóico no se observó relación alguna entre IR y el número de procesos concomitantes (Figura 24). Esta tendencia se repitió para todas las condiciones clínicas: enfermedades bacterianas (25), desnutrición (26), leptospirosis (27), causa no determinada (28), enfermedades parasitarias (29) y trauma (30).

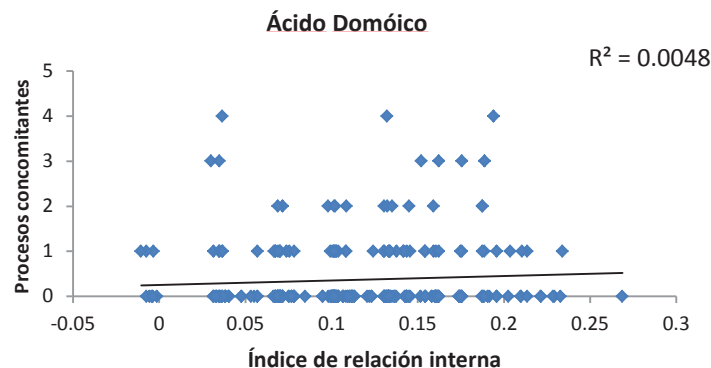


Figura 24. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por intoxicación con ácido domóico. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

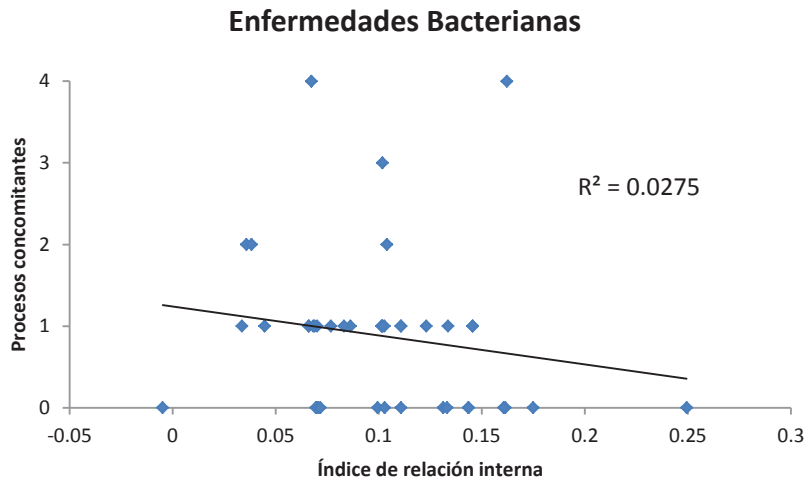


Figura 25. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por enfermedades bacterianas. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

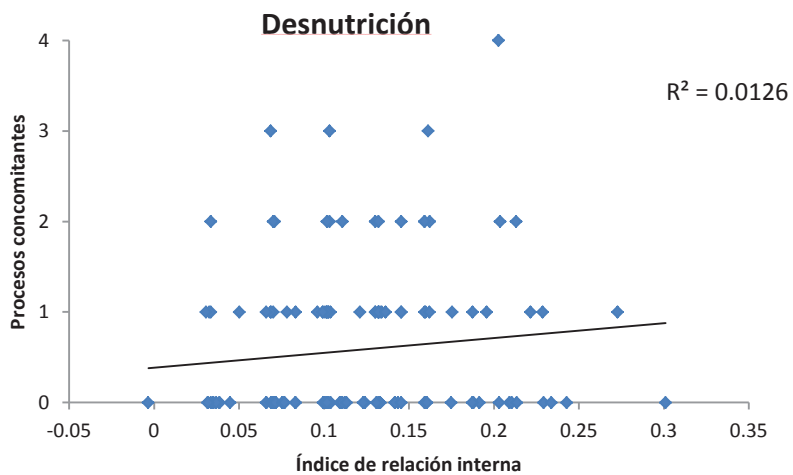


Figura 26. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por desnutrición. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

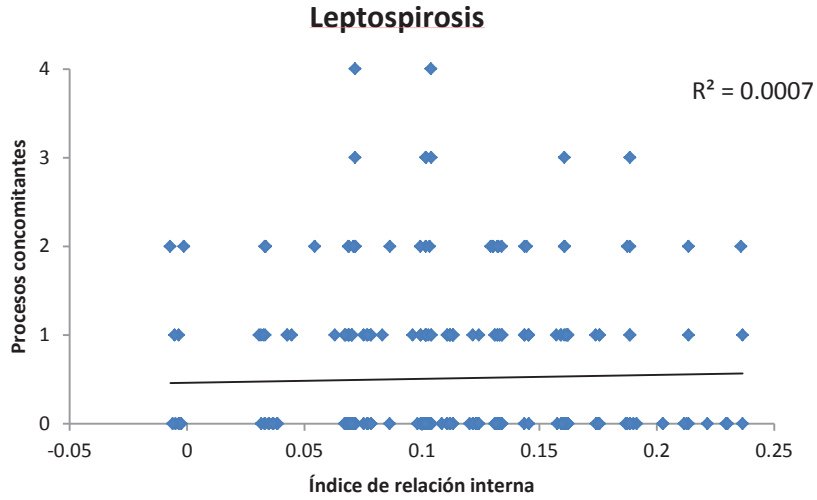


Figura 27. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por leptospirosis. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

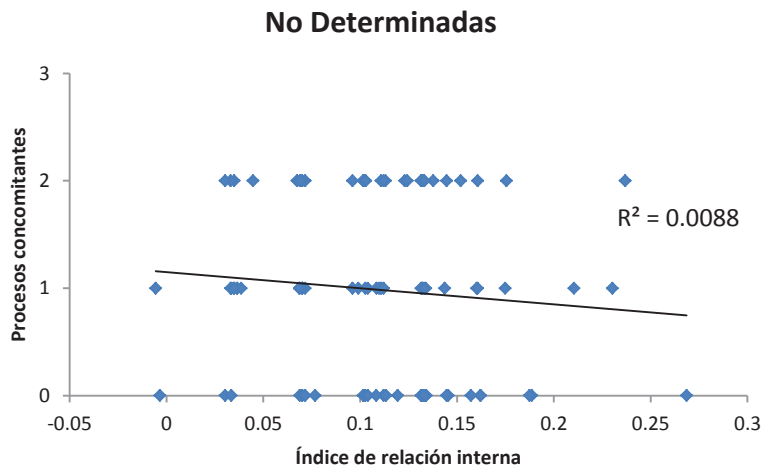


Figura 28. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos para los cuales no se determinó la causa de varamiento. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

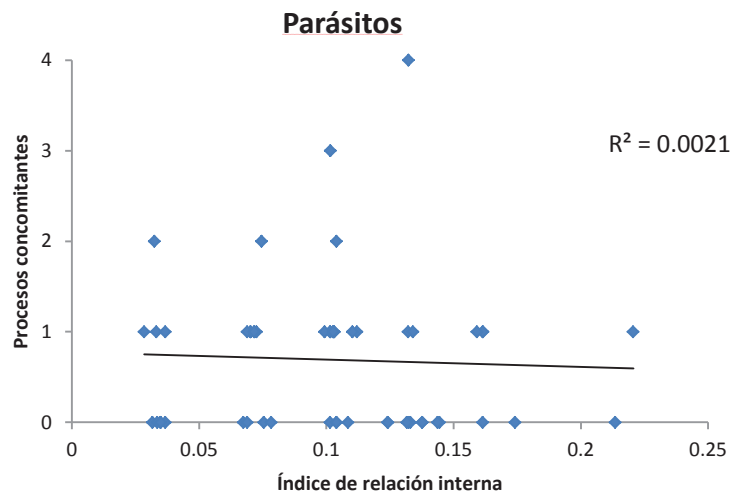


Figura 29. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por enfermedades parasitarias. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

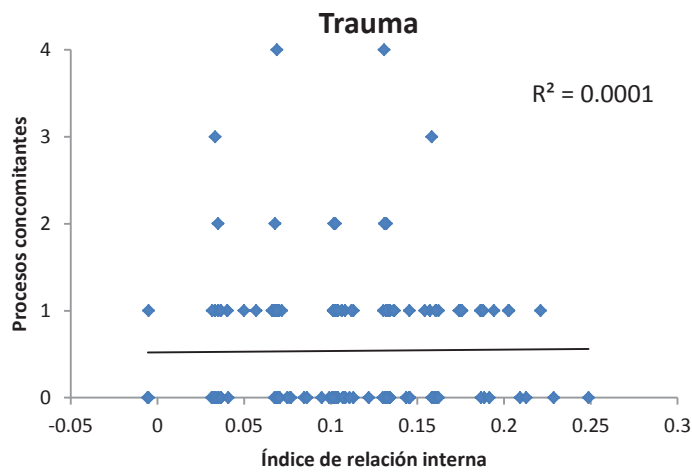


Figura 30. Relación entre IR y el número de procesos concomitantes para lobos marinos varados por trauma. La relación entre las variables no fue significativa ($p > 0.05$).

X. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos para el tiempo en rehabilitación relacionado con los valores de IR, se observó que para las enfermedades bacterianas individuos con valores altos de IR, tuvieron la tendencia a permanecer un menor tiempo en rehabilitación. Mientras que para las enfermedades parasitarias, IR parece estar jugando un papel importante en el tiempo que pasan los lobos en rehabilitación. Estos resultados aparentemente contradictorios y, en el caso de las infecciones bacterianas, contrario a lo predicho, pudieran explicarse con base en el sistema inmunitario. La respuesta por parte del sistema inmune innato es a partir del reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), la cual puede desencadenar diferentes mecanismo de defensa tales como la inflamación, fagocitosis (Schulz, 1985; Hardie, 1993) y el complemento (Goodwin, 1993), así como las respuestas humorales (producción de anticuerpos) del sistema inmune adquirido (Membreño, 2008; Tizard, 2009) lo que le permitirán al individuo hacer frente a los patógenos. Si bien la respuesta del sistema inmune es sumamente importante, en el caso de los lobos que son sometidos a un tratamiento de rehabilitación, la recuperación esta dada por un lado por el tipo y grado de severidad de la patología y por otro lado por el tipo de tratamiento que se lleva a cabo para cada tipo de condición clínica diagnosticada. La condición clínica aquí definida como “enfermedades bacterianas” incluye varias condiciones, y una de las mas comúnmente diagnosticadas fue septicemia cuyo protocolo de rehabilitación para la mayor parte de vertebrados silvestres es a través del uso de antibióticos sobre todo de amplio espectro (Haskins, 1994; Fowler et al., 2003) o la combinación de más de un antibiótico, sino se observan cambios en el paciente dentro las primeras 12 a 24 hrs, el régimen de antibióticos es modificado, así como la administración de una adecuada terapia de líquidos.

En el caso de las enfermedades parasitarias también se agrupa a diversas patologías, de las cuales sobresale la neumonía verminosa. El tratamiento de rehabilitación de manera general es a base de desparasitantes, con una combinación de agentes mucolíticos, antibióticos y desinflamatorios, el cual se llega a prolongar hasta por mas de 30 días, ya que la administración sobre todo de los desparasitantes debe ser de manera paulatina, debido a los efectos colaterales que el tratamiento podría causar al individuo (Gage et al.,

1993). Los patrones contrastantes en la relación IR y el tiempo de rehabilitación de estas categorías clínicas pudiera ser debido a diferencias en la respuesta inmune de los individuos, y a diferencias en el tratamiento o absorción de los medicamentos. Además, y de manera no excluyente, el análisis estadístico utilizado no permite incorporar la contribución de otras variables, como el sexo, edad, estado nutricional, año de muestreo y origen filogeográfico (Acevedo-Whitehouse et al., 2006), que pudieran ser importantes para describir la relación de IR y el periodo de rehabilitación.

Para el resto de las condiciones para las cuales no observó que IR tuviera un papel importante tal es el caso de animales que presentaron intoxicación con ácido domóico, el daño se genera principalmente en el hipocampo y la respuesta inmune puede estar afectada debido a sus efectos inmunotóxicos y a los efectos ionotrópicos que ejerce al ácido domóico a través de receptores de superficie de subtipos de glutamato (Lenin et al 2008). El tratamiento en pacientes por intoxicación con ácido domóico depende del grado de lesión y de los signos clínicos que presentan los individuos. De manera general se administran algunos fármacos que pertenecen al grupo de las benzodiazepinas (diazepam, lorazepam) y algunos barbitúricos (fenobarbital), terapia de líquidos y reducción del edema cerebral (Laurie et al., 1993; Gulland, 2000), sin embargo pacientes con signos clínicos crónicos su pronóstico no es favorable. Para aquellos pacientes con trauma, la recuperación dependerá del grado de la lesión y de los órganos y tejidos que se hayan comprometido, las lesiones pueden ir desde la mordedura de un tiburón hasta un disparo, por lo que para este estudio se observó que los niveles de IR por si solos no están determinando el tiempo que los lobos pasan en rehabilitación.

Una de las causas de desnutrición de los lobos puede deberse a efectos climatológicos, tal es el caso de El Niño que produce un cambio en la distribución de las presas del lobo marino (Trillmich y Limberger, 1985; Polis, 1997; Learmonth et al, 2006), lo que trae como consecuencia periodo prolongados de ayuno para los lobos y genera que el organismo utilice las reservas de energía (proteínas y lípidos) (Sugden et al., 1989; Owen et al., 1990; Puiggros, 2010); esta estado clínico no activa ningún mecanismo inmunológico de reconocimiento de PAMP o antígenos, y si altos niveles de endogamia tendrán una repercusión sobre el sistema inmune (tal es el caso del MHC), entonces para la condición de desnutrición no se esperaría un efecto de la endogamia sobre el tiempo que pasan los lobos en rehabilitación. Resultados semejantes se observaron en términos de la resolución de la rehabilitación, donde para todas las condiciones clínicas examinadas,

parecen ser otros factores los que determinan si un animal es liberado exitosamente, o no se recupera de la enfermedad.

Si bien los programas de rehabilitación han generado muchas controversia y argumentos desfavorables tales como efectos deletéreos sobre el *pool* de genes, estrés de los individuos, así como de un riesgo potencial de esparcimiento de enfermedades y de un uso inadecuado de los recursos económicos destinados a la rehabilitación, han puesto en duda la importancia de los programas de rehabilitación en animales silvestres (Williams y Williams, 1996), ya que para algunas especies se deduce a partir de monitoreos realizados que casi un cuarto de los individuos rehabilitados y liberados mueren poco después (Monnett et al. 1990) y en algunas ocasiones el número de individuos no es representativo de la población total (Garrott et al., 1993). A pesar de esto, es importante mencionar que algunos aspectos de los programas de rehabilitación de fauna silvestre han permitido la obtención de una enorme cantidad de datos sobre enfermedades que puedan estar cursando están especies en su medio natural.

XI. CONCLUSIONES

Este estudio ofrece evidencia de que el índice de relación interna, como estimador de los niveles individuales de heterocigosidad, no juega un papel clave en determinar la respuesta a la rehabilitación en la mayoría de las condiciones, aunque resalta que algunas condiciones si están influidas hasta en una 17% por la composición genética de los individuos. Sería importante incluir diversas variables que pudieran estar jugando un papel importante en aspecto de rehabilitación en los individuos, como el origen filogeográfico, estado fisiológico y hormonal y exposición a contaminantes, ya que el conocimiento de estos aspectos permitirá la toma de decisiones más informada en el futuro, con el fin de tener una mejor rehabilitación y pronóstico de los individuos. Así mismo valdría la pena realizar estudios semejantes en otras especies silvestres que son rehabilitadas frecuentemente y en la que se puede presentar la endogamia.

LITERATURA CITADA

Acevedo-Whitehouse K. (2001). Incidencia de leptospirosis en crías de *Zalophus californianus californianus* en siete colonias reproductivas del Golfo de California durante la temporada reproductiva del 2000. Tesis de Maestría en Ciencias. Ensenada, Baja California

Acevedo-Whitehouse K., Gulland F., Greig D. y Amos W. (2003). Disease susceptibility in California sea lions –Inbreeding influences the response of these animals to different pathogens in the wild-. *Nature*, Vol. 422.

Acevedo-Whitehouse K., Vicente J., Gortazar C., Höfle U., Fernandez-de-Mera I. G. y Amos W. (2005). Genetic resistance to bovine tuberculosis in the Iberian wild boar. *Molecular Ecology* 14, 3209-3217.

Acevedo-Whitehouse K., Petetti, Duignan P., Castinel A. (2009). Hookworm infection, anaemia and genetic variability of the New Zealand sea lion. *Proc. R. Soc. B* 3523-3529.

Acevedo-Whitehouse K., Spraker T. R., Lyons E., Melin S. R., Gulland F., Delong R. L. y Amos W. (2006). Contrasting effects of heterozygosity on survival and hookworm resistance in California sea lion pups. *Molecular Ecology* 15, 1973-1982.

Allen S. G., Mortenson J. y Webb S., (2011). Field guide to marine mammals of the Pacific Coast. Editorial University of California Press. London, England.

Altizer S., Harvell D. y Friedle E. (2003). Rapid evolutionary dynamics and disease threats to biodiversity. *TREND in Ecology and evolution*. Vol 18 N° 11.

Álvarez-Falconi P. P. (2009). Ácido domóico e intoxicación amnésica por moluscos en salud pública. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. Vol 28, N° 4, 505-516.

Amos W. y Acevedo-Whitehouse K. (2009) A new test for genotype-fitness associations reveals a single microsatellite allele that strongly predicts the nature of tuberculosis infections in wild boar. *Molecular Ecology* doi:101111/j.1755-0998.2009.02560.x.

- Anderson D. M. (1997). Turning back the harmful red tide. *Nature* 6642, 513-514.
- Anderson R. M. y May R. M. (1992). *Infectious Diseases of Humans: dynamics and control*. Oxford Science Publications, Oxford, UK.
- Anderson R. M. y May R. M. (1979). Population biology of infectious diseases: Part I. *Nature* Vol. 280: 361-367.
- Baillie J. E. M., Stuart S. N. y Hilton-Taylor C. (2004). 2004 IUCN Red List of Threatened Species. A Global Species Assessment. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Baker J. (1984). Mortality and morbidity in grey seal pups (*Halichoerus grypus*) on Sable Island, Nova Scotia. *Journal of Zoology*. 188, 477-500.
- Balloux F., Amos W. y Coulson T. (2004). Does heterozygosity estimate inbreeding in real populations?. *Molecular Ecology* 13, 3021-3031.
- Barlow J. y Boveng P. (1991). Modeling age-specific mortality for marine mammal populations. *Marine Mammal Science* 7(1), 50-56.
- Barrett A. C. H. y Chalesworth D. (1991). Effects of a change in the level of inbreeding on the genetic load. *Nature*. Vol 352.
- Bijlsma R., Bundgaard J. y Boerema A. C. (2000). Does inbreeding affect the extinction risk of small populations?: predictions from *Drosophila*. *J. Evol. Biol.* 13, 502-514.
- Bijlsma R., Bundgaard J. y Van Putten W. F. (1999). Environmental dependence of inbreeding depression and purging in *Drosophila melanogaster*. *J. Evol. Biol.* 12, 1125-1137.
- Bittles A. H. y Marov E. (1988). Human mating patterns-Inbreeding in human populations: an assessment of the costs-. Society for the Study of Human Biology. Symposium 28.
- Bittles A. H. y Neel J. V. (1994). The costs of human inbreeding and their implications for variations at the genome level. *Nature Genetic* 8, 117-121.
- Blaustein A. R. y Johnson P. (2003). The complexity of deformed amphibians. *Front Ecol. Environ.* 1(2), 87-94.

Boots M. y Sasaki A. (2003). Parasite evolution and extinctions. *Ecology letters.*, 6, 176-182.

Bouman J. (1977). The future of Przewalski horses in captivity. *Int. Zoo Yb.* 17, 62-68.

Bryant E. H. y Reed D. H. (1999). Fitness decline under relaxed selection in captive populations. *Conservation Biology.* 13(3), 665-669.

Carrera J. G. y del Amo A. N. Actualización en el diagnóstico y el tratamiento de la septicemia en pequeños animales [En línea <http://cvpba.org.ar> citado el 20 de noviembre del 2012].

Carter G. R. (1985). Bacteriología y micología veterinarias. Aspectos esenciales. Manual Moderno. México, D. F. 355pp.

Cassinello J., Gomedino M. y Roldan E. R. S. (2001). Relationship between coefficient of inbreeding and parasite burden in endangered gazelles. *Conserv. Biol.* 15, 1171-1174.

Castinel A., Kittelberger R., Pomroy W. E., Duignan P. J., Chilvers B. L. y Wilkinson I. S. (2008). Humoral immune response to *Klebsiella spp.* in New Zealand sea lions (*Phocarctos hookeri*) and the passive transfer of immunity to pups. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(1), 8-15.

Charlesworth D. y Charlesworth B. (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematic.* 18, 237-268.

Chávez E. P., Ryan J., Llunch-Cota S. E. y Niquen C. M. (2003). From Anchovies to sardines and back: multidecadal changes in the Pacific Ocean. *Science* 299, 217-221.

Chen X. (1993). Comparison of inbreeding and outbreeding in hermaphroditic *Arianta arbustorum* (L.) (land snail). *Heredity.* 71, 456-461.

Collado V. M., Porrás R., Cutuli M. T. y Gómez-Lucía E. (2008). El sistema inmune innato I: Sus mecanismos. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 2(1), 1-16.

Coltman D. W., Pilkington J. G., Smith J. A. y Pemberton J. M. (1999). Parasite-mediate selection against inbred Soay sheep in free-living, island population. *Evolution.* 53, 1259-1267.

Crow J. F. (1948). Alternative hypotheses of hybrid vigor. *Genetics* 33, 477.

Dailey M. D. (2001). Handbook of Marine Mammal Medicine. Parasitic diseases. 2da Edición. Editorial CRC. Bekerley, CA.

Daszak P., Berger L., Cunningham A. A., Hyatt A. D., Green D. E. y Speare R. (1999). Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 135-748.

Daszak P., Cunningham A. A. y Hyatt A. D. (2001). Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. *Science* 287, 443-449.

Daszak P., Cunningham A. A. y Hyatt A. D. (2001). Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta tropica* 78, 103-116.

Davidson A. D., Hamilton M. J., Boyer A. G., Brown J. H. y Ceballos G. (2009). Multiple ecological pathways to extinction in mammals. *PNAS*, Vol 106 N° 26.

Dobson A. y Foufopoulos J. (2001). Emerging infectious pathogens of wildlife. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 356, 1001-1012.

Festing M. F. W. (1979). Inbred strains in biomedical research. London: Macmillan.

Fleischman R. W. y Squire R. A. (1970). Verminous pneumonia in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Pathol. Vet.* 7:89.

Flesness N. (1977). Gene pool conservation and computer analysis. *Int. Zoo Yb.* 17: 77-18.

Fowler K. y Whitlock M. C. (1999). The distribution of phenotypic variance with inbreeding. *Evolution.* 53, 1143-1156.

Fowler V. G., Olser M. K., Corey R., Woods C. W., Cabell C. H., Reller B., Cheng A. C., Dudley T. y Oddone E. Z. (2003). Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia.

Gage L. J., Gerber J. A., Smith D. M., Morgan L. E. (1993). Rehabilitation and treatment success rate of California sea lions (*Zalophus californianus*) and northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) stranded along the central and northern California coast, 1984-1990. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 24(1): 41-47.

Gagneux P., Boesch C. y Woodruff D. S. (1999). Female reproductive strategies, paternity, and community structure in wild West African chimpanzees. *Animal Behaviour*. 57, 19-32.

Garrod A. E. (1902). The Incidence of Alkaptonuria: A study in chemical individuality. *Lancet*, vol. ii, 1616-1620.

Gilmartin W. G., DeLong R. L., Smith A. W., Sweeney J. C., De Lappe B. W., Risebrough R. W., Griner L. A., Dailey M. D., Peakall D. B. (1976). Premature parturition in the California sea lion. *Journal of Wildlife Diseases* Vol 2.

Greenwood P. J., Harvey P. H. y Perris C. M. (1978). Inbreeding and dispersal in the great tit. *Nature*. 271, 42-54.

Greig D. J., Gulland F. M. D., Kreuder C. (2005). A decade of live California sea lion (*Zalophus californianus*) stranding along the Central California coast: causes and trends, 1991-2000. *Aquatic Mammals*, 31(1), 11-22.

Gulland F. M. D. (1997). The impact of parasites on wild animal populations. *Parassitologia*. 39, 287-291.

Gulland F. M. D. (2000). Domoic acid toxicity in California sea lions (*Zalophus californianus*) stranded along the Central California coast, May-October 1998. Report to the National Marine Fisheries Service Working Group on Unusual Marine Mammal Mortality Events. U.S. Dep. Cornmer., NOAA Tech. Memo. NMFS-OPR-17, 45 p.

Hansson B. y Westerberg L. (2002). On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. *Molecular Ecology*. 11, 2467-2474.

Harness. 2005. Harmful algal research and response national environmental science strategy. 2005-2015. National Plan for Algal Toxins and Harmful Algal Blooms

Harvell C. D., Mitchell C. E., Ward J. R., Altizer S., Dobson A. P. Ostfield R. S y Samuel M. D. (2002). Climate warming and disease risk for terrestrial and marine biota. *Science* 296, 12-13.

Heath S. E. y Johnson R. (1994). Leptospirosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 205, 1518-1523.

Heide-Jorgensen M. P., Harkonen T., Dietz R. y Thompson P. M. (1992). Retrospective of the 1988 European seal epizootic. *Dis. Aquat. Organisms* 13, 37-62.

Hilton-Taylor C. (2000). IUCN Red List of Threatened Species (compilación). IUCN, Gland Switzerland and Cambridge, UK.

Hilton-Taylor C., Pollock C. M., Chanson J. S., Butchart S. H. M., Oldfield T. E. E. y Katariya Vineet (2009). 2008 IUCN Red List of Threatened Species State of the world's species. IUCN Gland, Switzerland.

Hoffmann A. A. y Willi Y. (2008). Detecting genetic responses to environmental changes. *Nat. Rev. Genet.* 9, 421-432.

Hughes T. P. *et al.* (2003). Climate change, human impacts, and the resilience of coral reef. *Science* 301, 929-933.

IUCN Red List (2009). Wildlife in a Changing world: An analysis of the 2008 IUCN Red List of threatened species. IUCN Gland, Switzerland.

Jackson J. B., *et al.* (2001). Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystem. *Science* 293, 629-637.

Jiménez J. A., Hughes K. A., Alaks G., Graham L. y Lacy R. C. (1994). *Science*. 266.

Johnson S., Lowenstine L., Gulland F., Jang S., Imai D., Almy F., DeLong R. y Gardner I. (2006). Aerobic bacterial flora of the vagina and prepuce of California sea lions (*Zalophus californianus*) and investigation of associations with urogenital carcinoma. *Veterinary Microbiology*. 114, 94-103.

Johnson P. T. J. y Sutherland D. R. (2003). Amphibian deformities and *Ribeiroia* infection: An emerging helminthiasis. *Trends in Parasitology* 19, 332-335.

Johnson P. T. y Chase J. M. (2004). Parasites in the food web: Linking amphibian malformations and aquatic eutrophication. *Ecol. Lett.* 7, 521-526.

Jones M. E., Jarman P. J., Lees C. M., Estermen H., Hamede R. K., Mooney N. J. Mann D., Pukk C. E., Bergfeld J. y McCallum H. (2007). Conservation management of Tasmanian devils in the context of an emerging, extinction-threatening disease: devil facial tumor disease. *Ecohealth* 4, 326-337.

Keller L. F. y Waller D. M. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *TRENDS in Ecology & Evolution*. Vol 17, N°5.

King D. P., Hure M. C., Goldstein T., Aldridge B. M. Gulland F. M. D., Saliki J. T. Buckles E. L., Lowensteine L. J. y Stott J. L. (2002). Otarine herpesvirus-1: A novel gammaherpesvirus associated with urogenital carcinoma in California sea lions (*Zalophus californianus*). *Vet. Microbiol.* 86, 131-137.

Klein J. (1986). Natural history of the Major Histocompatibility Complex. Wiley, New York. 775.

Kruuk L. E. B., Sheldon B. C. y Merila J. (2002). Severe inbreeding depression in collared flycatchers (*Ficedula albicollis*). *Proc. R. Soc. Lond. B* 269, 1581-1589.

Kurtz J., Kalbe M., Aeschlimann P. B., Häberli M. A., Wegner K. M., Reusch T. B. H. y Milinski M. (2004). Major histocompatibility complex diversity influences parasite resistance and innate immunity in sticklebacks. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271, 197-204.

Landsberg J. H. (2002). The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Rev. Fish. Sci.* 10 113-390.

Lasley J. F. (1978). Genetics of livestock improvement. Englewood Cliffs: Prentice-Hall.

Lyles A. M. y Dobson A. P. (1993). Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites. *J. Zoo. Wildl. Med.* 24, 315-326.

Lyons E. T., DeLong R. L., Melin S. R. y Tolliver S. (1997). Uncinariasis in northern fur seal and California sea lions pups from California. *Journal of Wildlife Diseases*. 33(4), 848-852.

Lyons E. T., Melin S. R., DeLong R. L., Orr A. J. Gulland F. M. y Tolliver S. C. (2001). Current prevalence of adult *Uncinaria spp.* in northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) and California sea lion (*Zalophus californianus*) pups on San Miguel Island, California, with notes on the biology of these hookworms. *Veterinary Parasitology*. 97(4), 309-318.

Lyons E. J., Frodsham A. J., Zhang L., Hill A. V. S y Amos W. (2009). Consanguinity and susceptibility to infectious diseases in humans. *Biol. Lett.* doi: 10.1098/rsbl.2009.0133.

Malo A. F. y Coulson T. (2009). Heterozygosity-fitness correlations and associative overdominance: new detection method and proof of principle in the Iberian wild boar. *Molecular Ecology* doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04219.

Marcogliese D. J. (2005). Parasites of the superorganism: Are they indicators of ecosystem health? *International Journal for Parasitology* 35, 705-716.

McCallum H. y Dobson A. (1995). Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *Trends Ecol. Evol.* 10, 190-194.

Membreño J. P. (2008). Fisiopatología de la septicemia: un enfoque molecular. *Med. Int. Mex.* 24(4):304-12.

Merola M. (1994). A reassessment of homozygosity and the case for inbreeding depression in the cheetah, *Acinocyx jubatus*: implications for conservation. *Conservation Biology* 8, 961-971.

O'Brien S. J. y Evermann J. F. (1988). Interactive influence of infectious disease and genetic diversity in natural populations. *Trends Ecol. Evol.* 6, 254-259.

O'Brien S. J., Roelke M. E., Marker L., Newman A., Winkler C. A., Meltzer D., Colly L., Evermann J. F., Bush M. y Wild D. E. (1985). Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. *Science, New Series*, Vol. 227, No. 4693, 1428-1434.

O'Keefe K. J. (2005). The evolution of virulence in pathogens with frequency-dependent transmission. *Journal of Theoretical Biology* 233, 55-64.

Osterhaus A. D. M. E., Groen J., UytdeHaag F. G. C. M., Visser I. K. G. Bildt M. W. G., van de Bergman A. y Klingerborn B. (1989). Distemper virus in Baikal seals. *Nature* 338, 209-210.

Owen O. E., Tappy L., Mozzoli M. A. Smalley K. J. (1990). The metabolic and molecular basis of acquired disease: Acute starvation. Editorial Bailliere Tindal. London.

Peeters M., Franklin A. y Van Goethem J. L. (2003). Biodiversity in Belgium. Royal Belgian Institute of Natural Resources, Brussels, Belgium.

Pennisi E. (1999). The prills of genetic purging. *Science.* 285, 193.

Prakesh V. (1999). Status of vultures in Keoladeo National Park, Bharatpur, Rajasthan, with special reference to population crash in *Gyps* species. *F. Bombay Nat. Hist. Soc.* 96, 365-378.

Pray L. A. y Goodnight C. J. (1995). Genetic variation in inbreeding depression in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Evolution.* 49, 176-188.

Pusey A. y Wolf M. (1996). Inbreeding avoidance in animals. *Tree.* Vol. 11, No. 5.

Potts W. K. y Wakeland E. K. (1990). Evolution of diversity at the major histocompatibility complex. *Trends in Ecology & Evolution* 5, 181-187.

Puiggross C. (2010). Manual de Nutrición Artificial Domiciliaria: Malnutrición, ayuno y estrés metabólico. Segunda Edición. Editorial UNED. Madrid, España.

Ralls K., Brugger K. y Ballou J. (1979). Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. *Science, New York.* 206, 1101-1103.

Ralls K. y Ballou J. (1981). Effects of inbreeding on infant mortality in captive primates. *International Journal of Primatology*, Vol. 3, No. 4, 1982.

Ralls K. y Ballou J. (1982). Effect of inbreeding on juvenile mortality in some small mammal species. *Laboratory Animals* 16, 159-166.

Ralls K., Ballou J. D. y Templeton A. (1988). Estimates of lethal equivalents and the cost of inbreeding in mammals. *Conservation Biology*, Vol. 2, No. 2, 185-193.

Reed D. H. y Frankham R. (2003). Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* Volume 17, No. 1.

Reusch T. B. H. y Wood T. (2007) Molecular ecology of global climate change. *Mol. Ecol.* 16, 3973-3992.

Roelke-Parker M. E., Munson L., Packer C., Kock R., Cleaveland S., Carpenter M., O'Brien S. J., Pospischil A., Hofmann-Lehmann R., Lutz H., Mwamengele G. L., Mgasa M. N., Machange G. A., Summers B. A., Appel M. J. (1996). A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). *Nature* 379, 441-445.

Roff D. A. (1998). Effects of inbreeding on morphological and life history traits of the sand cricket, *Gryllus firmus*. *Heredity.* 81, 28-37.

Roff D. A. (2002). Inbreeding depression: Tests of the overdominance and partial dominance hypotheses. *Evolution*, 56(4), 768-775.

Roitt I., Brostoff J. y Male D. (2001). Immunology. Sexta edición. Editorial MOSBY. ISBN0 7234 31892. Pag. 1-4.

Saccheri I. J., Brakefield P. M. y Nichols R. A. (1996). Severe inbreeding depression and rapid fitness rebound in the butterfly *Bicyclus anynana* (Satyridae). *Evolution*. 50(5), 2000-2013.

Schipper J., Chanson J. S., Chiozza F., Cox N. A., Hoffmann M., Katariya V., Lamoreux J., Rodrigues A. S. L., Stuart S. N., Temple H. J., Baillie J., Boitani L., Lacher T. E., Mittermeier R. A., Smith A. T., Absolon D., Aguiar J. M., Amori G., Bakkour N., Baldi R., Berridge R. J., Bielby J., Black P. A., Blanc J. J., Brook T. M., Burton J. A., Butynski T. M., Catullo G., Chapman R., Cokeliss Z., Collern B., Conroy J., Cooke J. G., Da Fonseca G. A. B., Derocher A. E., Dublin H. T., Duckworth J. W., Emmons L., Emslie R. H., Festa-Bianchet M., Foster M., Foster S., Garshelis D. L., Gates C., Gimenez-Dixon M., Gonzalez S., Gonzalez-Maya J. F., Good T. C., Hammerson G., Hammond P. S., Happold D., Happold M., Hare J., Harris R. B., Hawkins C. E., Haywood M., Heaney L. R., Hedges S., Helgen K. M., Hilton-Taylor C., Hussain S. A., Ishii N., Jefferson T. A., Jenkins R. K. B., Johnston C. H., Keith M., Kingdon J., Knox D. H., Kovacs K. M., Langhammer P., Leus K., Lewison R., Lichtenstein G., Lowry L. F., Macavoy Z., Mace G. M., Mallon D. P., Masi M., Mcknight M. W., Medellín R. A., Medici P., Mills G., Moehlman P. D., Molur S., Mora A., Nowell K., Oates J. F., Olech W., Oliver W. R. L., Oprea M., Patterson B. D., Perrin W. F., Polidoro B. A., Pollock C., Powel A., Protas Y., Racey P., Ragle J., Ramani P., Rathbun G., Reeves R., Reilly S. B., Reynolds III J. E., Rondinini C., Rosell-Ambal R. G., Rulli M., Rylands A. B., Savini S., Schank C. J., Schrest W., Self-Sullivan C., Shoemaker A., Sillero-Zubiri C., De Silva N., Smith D. E., Srinivasulu C., Stephenson P. J., Strien N. V., Talukdar K. B., Taylor B. L., Timmins R., Tirira D. G., Tognelli M. F., Tsytsulina K., Veiga L. M., Vié J. C., Williamson E. A., Wyatt S. A., Xie Y. y Young B. E. (2008). The Status of the World's Land and Marine Mammals: Diversity, Threat, and Knowledge. *Science*. Vol. 322.

Schloegel L. M., Hero J. M., Berger L., Speare R., McDonald K. y Daszak P. (2006) The decline of the sharpnouted day frog (*Taudactylus acutirostris*): the first documented case of extinction by infection in a free-ranging wildlife species? *Ecohealth* 3, 35-40.

Scholín C. A., Gulland F., Doucette G. J., Benson S., Busman M., Chavez F. P., Cordaro J., DeLong R., De Vogelaere A., Harvey J., Haulena M., Lefebvre K., Lipscomb T., Loscutoff S., Lowenstine L. J., Marin R. III, Miller P. E., McLellan W. A., Moeller P. D. R., Powell C. L., Rowles T., Silvagni P., Silver M., Spraker T., Trainer V. & Van Dolah F. M. (2000). Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom. *Nature* 403:80–4.

Scott M. E. (1988). The impact of infections and disease on animal populations: Implications for conservation biology. *Conservation Biology*. Vol 2, N° 1.

Selgrade M. K. (2007). Immunotoxicity. The Risk is Real. *Toxicological Science* 100 (2), 328-332.

Skerratt L. F., Berger L., Speare R., Cashins S., McDonald K. R., Phillott A. D., Hines H. B., Kenyon N. (2007). Spread of Chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth Journal Consortium* 4, 125-134.

Slatis H. M. (1960). An analysis of inbreeding in the European bison. *Genetics* 45, 275-278.

Smith W. A., Mazet J. A. K. y Hirsh D. C. (2002). *Salmonella* in California wildlife species: prevalence in rehabilitation centers and characterization of isolates. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 33(3), 228-235.

Smith K. F., Acevedo-Whitehouse K. y Pedersen A. B. (2009). The role of infectious diseases in biological conservation. *Animal Conservation* 12, 1-12.

Sonne C., Leifsson P. S., Dietz R., Born E. W., Letcher R. J., Hyldstrup L., Riget F. F., Kirkegaard M. y Muir D. C. G. (2006). Xenoendocrine pollutants may reduce size of sexual organs in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental Science & technology* 40, 5668-5674.

Sorci G., Moller A. P., Boulinier T. (1997). Genetics of host-parasite interaction. *Trends Ecol. Evol.* 12, 196-199.

Spielman D., Brook B. W., Briscoe D. A. y Frankham R. (2004). Does inbreeding and loss of genetic diversity decrease disease resistance?. *Conservation Genetics* 5: 439-448.

Spraker T. R., Lyons E. T., DeLong R. L. y Zink R. R. (2004). Penetration of the small intestine of a California sea lion (*Zalophus californianus*) pup by adult hookworm (*Uncinaria spp.*). *Parasitology Research*. 92 (5), 436-438.

Steinhart P. (1992). In the blood of cheetahs. *Audubon* 94, 40-46.

Stuart S. N., Chanson J. S., Cox N. A. Young B., Rodrigues A. S. L., Fischman D. L. y Waller R. W. (2004). Status y trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306, 1783-1786.

Sugden M. C., Holnes M. J., Palmer T. N. (1989). Fuel selection and carbón flux during the starved to fed transition. *Biochem J.*, 263, 313-323.

Thrall P. H., Antonovics J. y Hall D. W. (1993). Host and pathogen coexistence in sexually transmitted and vector-borne diseases characterized by frequency-dependent disease transmission. *The American Naturalist*, Vol. 142, No. 3, 543-552.

Thomas C. D. et al. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature* 427, 145-148.

Tizard I. A. (2009). Introducción a la inmunología veterinaria. Octava edición. Editorial Elsevier Saunder. ISBN 978-1-4160-4989-0. Pag. 4-6.

Trowsdale J. y Parham P. (2004). Mini-review: defense strategies and immunity-related genes. *Eur. J. Immunol.* 34, 7-17.

Van Dolah F. M. (2000). Marine Algal Toxins: Origins, health effects, and their Increased occurrence. *Environ Health Perspect* 108, 133-141.

Work T. M., Barr B., Beales A. M., Fritz L., Quilliam M. A. y Wright L. C. (1993). Epidemiology of domoic acid poisoning in brown pelicans (*Pelecanus occidentalis*) and brandt's cormorants (*Phalacrocorax penicillatus*) in California. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 24 (1), 54-56.

Wright S. (1921). Correlation and causation. *Agric. Research*. 20, 557-585.

Wright S. (1922). Coefficients of inbreeding and relationship. *Am. Nat.* 56, 330-338.

Wright S. (1977). Evolution and the genetics of populations. Volume 3. Experimental results and evolutionary deductions. University of Chicago Press, Chicago.

Wright S. (1997). Evolution and the genetics of populations, vol III. Experimental results and evolutionary deductions. University of Chicago Press, Chicago.