



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Parámetros clínico-fisiológicos en neonatos de
Zalophus californianus como indicadores de la
variabilidad climática

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias Biológicas

Presenta

Lic. en Biología Carla Cadena Valdivia

Dirigido por:

Dra. Karina A. Acevedo Whitehouse

Querétaro, Qro. a 27 de Enero de 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



Parámetros clínico-fisiológicos en neonatos de
Zalophus californianus como indicadores de la
variabilidad climática

por

Carla Cadena Valdivia

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: CNMAC-253209-0223-123



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Parámetros clínico-fisiológicos en neonatos de *Zalophus californianus* como indicadores de la variabilidad climática

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de

Maestro en Ciencias Biológicas

Presenta

CARLA CADENA VALDIVIA

Dirigido por:

DRA. KARINA A. ACEVEDO WHITEHOUSE

Dra. Karina A. Acevedo Whitehouse
Presidente



Firma

M. C. Yessil Varinka Saenz Aguilar
Secretario



Firma

Dra. Mónica Elisa Queijeiro Bolaños
Vocal



Firma

Dra. Fabiola Guerrero de la Rosa
Suplente



Firma

Dra. Olga P. García Obregón
Suplente



Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Enero de 2023

México

Resumen

El cambio climático ha impactado la cadena trófica, principalmente a depredadores de hábitos costeros como el lobo marino de California. Existe evidencia indirecta de desnutrición en crías de esta especie cuando incrementan las anomalías en la temperatura superficial del mar (aTSM). Se cree que la disminución en la productividad primaria en las zonas de alimentación de las madres provoca modificaciones en la cantidad y calidad de la leche para sus crías. En este trabajo evaluamos el efecto de las aTSM sobre diversos parámetros fisiológicos, corporales y de salud de las crías, utilizando muestras biológicas colectadas entre 2012 y 2020, en colonias reproductivas del Golfo de California y del Archipiélago de San Benito. A partir de muestras de suero y utilizando un glucómetro comercial, se cuantificó la glucosa sanguínea de las crías. También se calculó la condición corporal como indicador de las reservas energéticas. Se contaron leucocitos y eritrocitos en frotis sanguíneos, con la finalidad de encontrar morfologías atípicas y anomalías indicativas de desnutrición en los conteos. Se determinó la habilidad del suero de las crías de inhibir el crecimiento de *E. coli*, mediante ensayos *ex vivo*, como un indicador fisiológico de su competencia inmune innata. Se determinaron las aTSM dentro de 100 km alrededor de cada colonia reproductiva. El aumento en la aTSM se asoció a una menor condición corporal (GLM, $p < 0.05$) y a un aumento en glucosa (GLM, $p < 0.05$), no obstante, el efecto fue diferente dependiendo del período de la gestación materna en que ocurrió la anomalía. Los conteos elevados de diversos leucocitos así como morfologías atípicas de eritrocitos encontradas, fueron explicadas por la aTSM (GLM, $p < 0.05$). La inhibición bacteriana fue explicada por la condición corporal de las crías (GLM, $p < 0.05$) y se observó una disminución en las categorías de inhibición conforme aumentaron las aTSM a lo largo de los años de muestreo. La glucosa y condición corporal de las crías también varió entre regiones, colonias y años. Con base en los resultados, se propone que los parámetros clínico-fisiológicos pueden ser indicadores de cambios ambientales ecosistémicos para su monitoreo oportuno en especies centinelas costeros.

Palabras clave: Anomalía climática, glucosa, condición corporal, bioindicadores, *Zalophus californianus*.

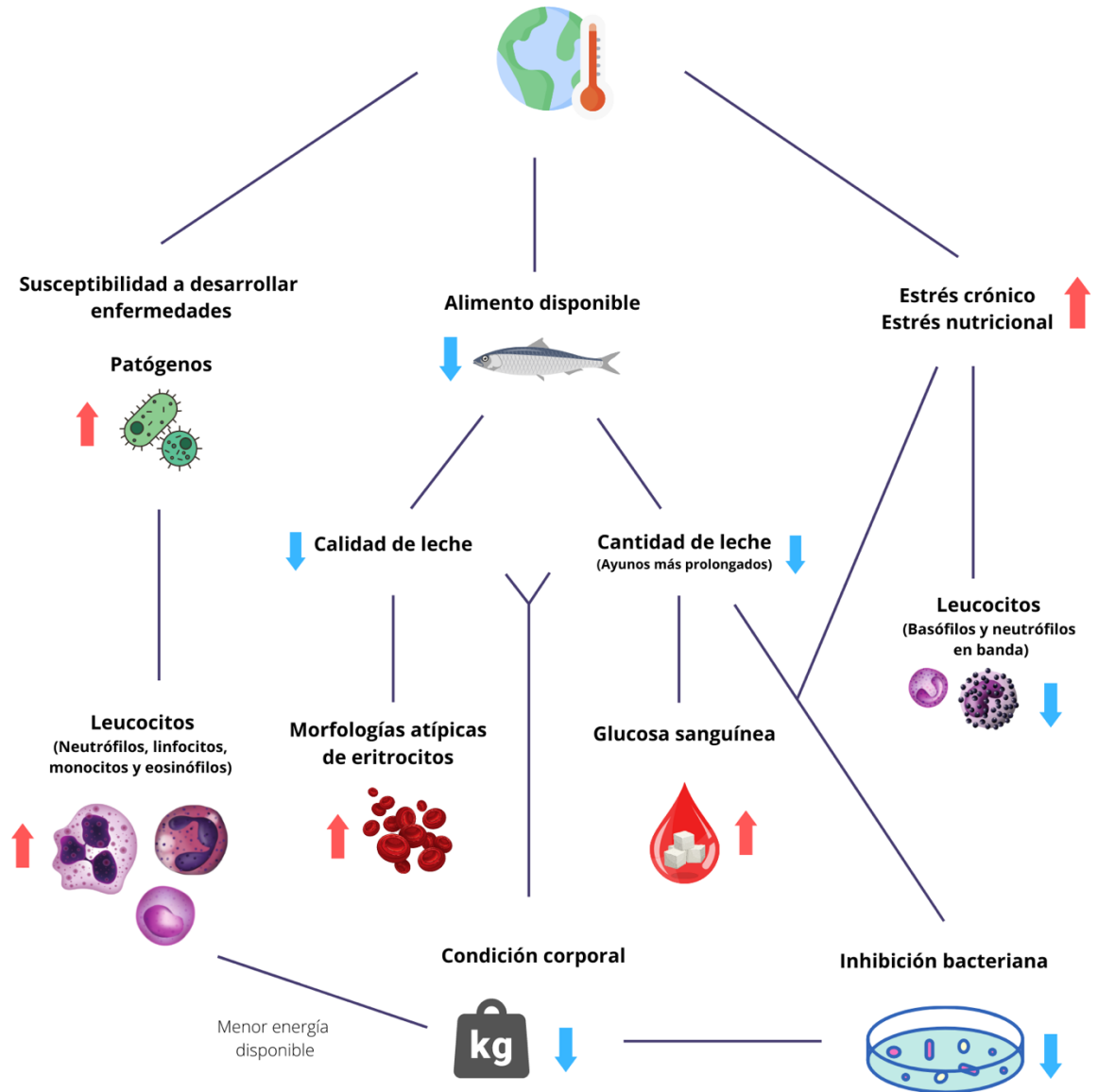
Summary

Climate change has impacted the marine food web, mainly predators with coastal habits such as the California sea lion. There is indirect evidence of malnutrition in offspring of this species when sea surface temperature (SST) anomalies increase. It is believed that the decrease in primary productivity in the feeding areas of the mothers causes changes in the quantity and quality of milk for the pups. We evaluated the effect of SST anomaly on physiological, body and health parameters of the pups, using biological samples collected between 2012 and 2020, in breeding colonies of the Gulf of California and the San Benito Archipelago. Using serum samples and a commercial glucometer, the blood glucose of the pups was quantified. Body condition was also calculated as an indicator of energy reserves. Leukocytes and erythrocytes were counted in blood smears, in order to find atypical morphologies and abnormalities indicative of malnutrition in the counts. The ability of pup serum to inhibit *E. coli* growth was determined by *ex vivo* assays as a physiological indicator of their innate immune competence. SST anomalies within 100 km around each breeding colony were determined. The increase in the SST anomaly was associated with a lower body condition (GLM, $p < 0.05$) and an increase in glucose (GLM, $p < 0.05$), however, the direction of the effect changed depending on the period of maternal gestation in which the anomaly occurred. The elevated counts of various leukocytes as well as atypical erythrocyte morphologies found were explained by the increase in SST anomalies (GLM, $p < 0.05$). Bacterial inhibition was explained by the body condition of the pups (GLM, $p < 0.05$) and a modification in the inhibition categories was demonstrated as SST anomalies increased over the years. The glucose and body condition of the pups also varied between regions. Based on the results, it is proposed that clinical-physiological parameters can be indicators of ecosystem environmental changes for timely monitoring in coastal sentinel species.

Keywords: Climatic anomaly, glucose, body condition, bioindicators, *Zalophus californianus*.



Incremento en las anomalías en la TSM



Resumen gráfico de la tesis. Efecto del incremento en las anomalías en la TSM sobre los parámetros clínico-fisiológicos estudiados.

“People protect what they love, they love what they understand and they understand what they are taught”

Jacques-Yves Cousteau

Declaratoria de autoría

Declaro que el trabajo que se presenta en esta tesis fue realizado por mi, a excepción de aquellas secciones que formaron parte de colaboraciones, mismas que se indican explícitamente en el texto.

Confirmando que las ideas originales aquí presentadas son de mi autoría y que a lo largo de la tesis le he dado crédito al trabajo de otros mediante el uso adecuado de las referencias.

Esta copia se ha sometido a la Universidad Autónoma de Querétaro bajo el entendido de que constituye material con derechos de autor y que no puede citarse ningún pasaje de esta tesis sin darle el crédito adecuado.

Dedicatorias

A mis papás.

A los lobos marinos de California (*Z. californianus*). Porque mi trabajo es solo una pequeña parte de un gran todo, pero seguiré buscando formas de ayudarlos.

Al mar, porque nos da mucho y le devolvemos muy poco.



Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Ciencias Naturales, por el apoyo que me brindaron para completar el programa de la Maestría en Ciencias Biológicas, así como para participar en cursos y congresos. A la Dra. Mahinda y la Dra. Mónica, quienes fueron coordinadoras de mi Maestría, así como al Dr. José Guadalupe.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de Maestría (número 771564) y por el proyecto (A1-S-16417-4354) que me permitió realizar esta tesis.

A Karina. Porque desde que te vi por primera vez hablando sobre lobos marinos, supe que algún día trabajaría contigo... y aquí estoy.
Por ser mi inspiración y ayudarme a crecer como estudiante y persona.

A mi papá. Porque gracias a ti nunca me ha faltado nada y he podido cumplir todos mis sueños.

A mi mamá. Porque cuando estoy lejos te extraño todos los días, pero gracias a ti soy fuerte.

A mis hermanos y mis sobrinos, porque sin ellos mi vida está incompleta.

A Luis, por estar a mi lado en los días bonitos y en los más difíciles. Porque te convertiste en el mejor compañero científico y viajero. También porque eres un gran "atrapador" de lobos.

A Alan, por ser el mejor amigo y siempre estar presente.

A Cynn, mi mejor amiga. A Nubi, Pool, Angie y Lupita.

A mis asesoras de tesis. Gracias Olga, Moni y Fabi por enseñarme tanto. A Varinka por estar siempre al pendiente de mis avances y pasar tanto tiempo trabajando conmigo.

Al Dr. Luis Enrique García Ortuño quien me ayudó a resolver mis dudas sobre los leucocitos.

Gracias a mis maestros de Biología; Fausto, Fito, Luis Hernández, Dalila, Tere Peña y Andrea.

A mis amigos de la Licenciatura y de la Maestría.

A mis compañeros del laboratorio; los quiero mucho, pollitos. Son mi segunda familia.

Gracias a Carlos Domínguez y a Ceci, quienes siempre me apoyaron en el laboratorio y en muchas otras cosas.

Gracias a Marina y Adri por ayudarme con mis dudas. Su trabajo y conteos son una gran parte de esta tesis.

A mis familiares, porque todos son muy especiales para mi.

A michita, por ser mi gran apoyo emocional, por soportar todos mis besos y abrazos durante todo este proceso.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	15
ÍNDICE DE FIGURAS	19
I. INTRODUCCIÓN GENERAL	21
II. ANTECEDENTES GENERALES	22
II.1. El lobo marino de California (<i>Zalophus californianus</i>)	22
II.2. Periodos del embarazo	23
II.3. Amenazas a la especie en aguas mexicanas	24
II.4. Movilidad de la especie	27
II.5. Regionalización ecológica de las colonias reproductivas	27
II.6. Área de estudio	28
II.6.1. El Océano Pacífico (Archipiélago de San Benito)	28
II.6.2. El Golfo de California	30
II.7 Alimentación	33
III. JUSTIFICACIÓN	36
IV. HIPÓTESIS GENERAL	36
V. OBJETIVO GENERAL	36
VI. METODOLOGÍA GENERAL	37
VI. 1. Determinación de las anomalías en la temperatura superficial del mar ...	39
CAPÍTULO 1: CONDICIÓN CORPORAL Y CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE GLUCOSA EN CRÍAS DE <i>Zalophus californianus</i>	42
1.1 INTRODUCCIÓN	42
1.1.1. La leche materna y su relación con la condición corporal de las crías	44
1.1.2. La glucosa sanguínea y su metabolismo	46

1.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	49
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
1.4 METODOLOGÍA	49
1.4.1 Condición corporal.....	49
1.4.2. Toma de muestras.....	50
1.4.3. Cuantificación de glucosa en suero.....	51
1.4.4. Análisis estadísticos	52
1.5 RESULTADOS	53
1.6 DISCUSIÓN	69
1.6.1. Concentración sanguínea de glucosa	70
1.6.2. Condición corporal o Índice de Masa Escalado	74
CAPÍTULO 2: CAPACIDAD SÉRICA DE INHIBICIÓN BACTERIANA	78
2.1 INTRODUCCIÓN	78
2.1.1. Sistema inmune.....	78
2.1.2. Sistema del complemento	78
2.1.3. Péptidos y proteínas antimicrobianas.....	81
2.1.4. Capacidad antimicrobiana del suero	82
2.2 HIPÓTESIS	85
2.3 OBJETIVO ESPECÍFICO	85
2.4 METODOLOGÍA	86
2.4.1. Inhibición del crecimiento bacteriano	86
2.4.2. Análisis estadísticos	87
2.5 RESULTADOS.....	88

2.5.1. Inhibición bacteriana.....	88
2.6 DISCUSIÓN	92
CAPÍTULO 3: CONTEOS CELULARES DE ERITROCITOS Y LEUCOCITOS.....	96
3.1 INTRODUCCIÓN	96
3.1.1. Los eritrocitos	96
3.1.2. Los leucocitos.....	101
3.1.3. Infecciones de relevancia en el lobo marino de California	106
3.1.4. Nutrición y células sanguíneas.....	107
3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	109
3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	109
3.4 METODOLOGÍA	109
3.4.1. Conteos celulares.....	110
3.5 RESULTADOS.....	111
3.5.1. Células sanguíneas: Leucocitos.....	111
3.5.1.1. Linfocitosis	111
3.5.1.2. Monocitosis	112
3.5.1.3. Eosinofilia.....	114
3.5.1.4. Basofilia	118
3.5.1.5. Neutrófilos en banda.....	119
3.5.1.6. Neutrofilia.....	122
3.5.2. Células sanguíneas: Eritrocitos	123
3.5.2.1. Acantocitos	125
3.5.2.2. Esquistocitos.....	126
3.5.2.3. Microcitos.....	127
3.5.2.4. Esferocitos	128
3.5.2.5. Eliptocitos.....	129

3.5.2.6. Excentrocitos	130
3.5.2.7. Codocitos	131
3.5.2.8. Macrocitos.....	132
3.6 DISCUSIÓN	133
3.6.1. Eritrocitos.....	135
VII. DISCUSIÓN GENERAL	138
VIII. CONCLUSIONES FINALES.....	141
IX. RECOMENDACIONES	144
X. REFERENCIAS	145

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Producción pesquera (peso vivo en toneladas) en Sonora, Sinaloa, Baja California y Baja California Sur, desde 2011-2020. Cuadro elaborado a partir del Anuario estadístico de acuicultura y pesca (CONAPESCA, 2020).....	25
Cuadro 2. Principales presas consumidas por <i>Z. californianus</i> durante 1995-1996, 42001 y 2002 en las colonias reproductivas estudiadas. Cuadro elaborado a partir de los datos de García-Rodríguez, 1999, García-Rodríguez y Auriolos-Gamboa, 2004, Porras-Peters y colaboradores (2008), Auriolos-Gamboa y Camacho-Ríos, 2007.	34
Cuadro 3. Coordenadas geográficas de las colonias reproductivas y años donde se llevó a cabo la toma de muestras.	38
Cuadro 4. Información nutrimental de las principales presas consumidas por el lobo marino de California. Los valores corresponden al contenido de nutrientes en una porción de 100g. Elaborado a partir de los datos de NOAA Fisheries (2022).	44
Cuadro 5. Promedio de las anomalías en la TSM (°C) de acuerdo al periodo de embarazo y año de nacimiento de las crías.....	53
Cuadro 6. Valores de la pendiente e intercepto, obtenidos mediante la regresión lineal. Estos pueden sustituirse en la ecuación de la recta para convertir las mediciones de glucosa.....	56
Cuadro 7. Modelo lineal generalizado construido para explorar la relación entre las anomalías en la TSM y la concentración sanguínea de glucosa.	57
Cuadro 8. Media y desviación estándar de la glucosa para las regiones del Golfo de California y el Archipiélago San Benito. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.....	58
Cuadro 9. Media y desviación estándar de la glucosa para las colonias reproductivas estudiadas. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.	60

Cuadro 10. Modelo lineal generalizado construido para explorar la relación entre las anomalías en la TSM y la condición corporal de las crías.	62
Cuadro 11. Media y desviación estándar de condición corporal para las regiones del Golfo de California y el Archipiélago San Benito. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.	66
Cuadro 12. Media y desviación estándar de la condición corporal para las colonias reproductivas estudiadas. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.	67
Cuadro 13. Regresión ordinal construida para explorar la relación de las anomalías en la TSM y el nivel de inhibición.	89
Cuadro 14. Modelo lineal generalizado construido para determinar la relación entre la inhibición sérica y la condición corporal.	90
Cuadro 15. Se muestra el porcentaje de inhibición por categoría, en cada año de estudio (2012-2020).	91
Cuadro 16. Morfologías atípicas de eritrocitos y las causas asociadas a su aparición.	99
Cuadro 17. Desviación de los leucocitos respecto a los intervalos normales y sus causas. Tabla elaborada a partir de los datos de Valenciano y colaboradores (2014), Tigner y colaboradores (2021) y Carrick y Begg (2008).	104
Cuadro 18. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la linfocitosis de las crías de <i>Z. californianus</i>	111
Cuadro 19. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la monocitosis de las crías de <i>Z. californianus</i>	112
Cuadro 20. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la eosinofilia de las crías de <i>Z. californianus</i>	114
Cuadro 21. Media y desviación estándar de los conteos de eosinófilos de las crías de <i>Z. californianus</i> por colonia/año. Las letras iguales representan las diferencias	

significativas encontradas. BE=Archipiélago de San Benito, CA=Cantiles, CO=Coloradito, FSI=Farallón San Ignacio, GR=Granito, IS=Islotes, MA=Machos, PA=Partido, RA=Rasito, RC=Rocas Consag, SE=San Esteban, SJ=San Jorge, SPM=San Pedro Martir, SPN=San Pedro Nolasco..... 116

Cuadro 22. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la basofilia de las crías de *Z. californianus*..... 118

Cuadro 23. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los conteos de neutrófilos en banda de las crías de *Z. californianus*. 120

Cuadro 24. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la neutrofilia de las crías de *Z. californianus*. 122

Cuadro 25. Resumen del efecto de las anomalías en la TSM en las morfologías atípicas de eritrocitos de las crías de *Z. californianus* de acuerdo al periodo del embarazo. 124

Cuadro 26. Modelo lineal generalizado construido para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los acantocitos de las crías de *Z. californianus*..... 125

Cuadro 27. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los esquistocitos de las crías de *Z. californianus*. .. 126

Cuadro 28. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los microcitos de las crías de *Z. californianus*. 127

Cuadro 29. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los esferocitos de las crías de *Z. californianus*. 128

Cuadro 30. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los eliptocitos de las crías de *Z. californianus*. 129

Cuadro 31. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los excentrocitos de las crías de *Z. californianus*. .. 130

Cuadro 32. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los codocitos de las crías de <i>Z. californianus</i>	131
Cuadro 33. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los macrocitos.....	132

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Colonias reproductivas del lobo marino de California en México y su regionalización. Imagen de Soto-García (2016).	28
Fig. 2. Coordenadas seleccionadas para la descarga de las anomalías en la TSM en el Golfo de California y el Archipiélago San Benito.....	40
Fig. 3. Anomalías en la temperatura superficial del mar entre 2012-2020 en los periodos del embarazo.....	54
Fig. 4. Regresión lineal entre las mediciones de glucosa de sangre de crías de <i>Z. californianus</i> en espectrofotómetro y glucómetro.	55
Fig. 5. Comparación de la glucosa sanguínea de las crías de <i>Z. californianus</i> entre regiones.	59
Fig. 6. Comparación de la glucosa sanguínea de las crías de <i>Z. californianus</i> entre las colonias reproductivas a través de los años.....	61
Fig. 7. Comparación de la condición corporal de las crías de <i>Z. californianus</i> entre regiones	66
Fig. 8. Comparación de la glucosa sanguínea de las crías de <i>Z. californianus</i> entre las colonias reproductivas a través de los años.....	68
Fig. 9. Mecanismos del sistema del complemento: vía clásica, alternativa y vía de las lectinas. Imagen de Bugla-Ploskonska y colaboradores (2009).....	80
Fig. 10. Respuesta del complemento después de una infección severa con <i>S. aureus</i> en ratas bien alimentadas y mal alimentadas. 1 milímetro de 2x10 ⁹ /ml de <i>S. aureus</i> en buffer fosfato salino se inyectó en la cavidad peritoneal en ratas de dos grupos: 1) Ratas con dieta a base de proteína (18%) (línea negra) y 2) Ratas con dieta a base de proteína (0.5%) (línea punteada). Imagen tomada de (Sakamoto y Nishioka, 1992).	84

Fig. 11. Se muestran las categorías que se obtuvieron tras realizar los ensayos de inhibición. Se dividieron en 4 niveles: 1 (Sin inhibición), 2 (Inhibición incompleta), 3 (Inhibición con colonias aisladas) y 4 (Inhibición completa).	87
Fig. 12. Comparación de los niveles de inhibición respecto a los años de nacimiento de las crías. Los colores representan la proporción total de cada categoría. El ancho de las barras corresponde al número de muestras analizadas	91
Fig. 13. Cronología de la aparición de las células madre hematopoyéticas en el embrión humano en desarrollo. Imagen tomada de Tavian y Peault, 2005.....	97
Fig. 14. Comparación de los casos de linfocitosis respecto a las anomalías de la TSM a mediados y finales del embarazo. 0= Ausencia de linfocitosis, 1=Presencia de linfocitosis.....	112
Fig. 15. Comparación de los casos de monocitosis respecto a las anomalías de la TSM a finales del embarazo y durante el periodo de muestreo. 0= Ausencia de monocitosis, 1=Presencia de monocitosis.	113
Fig. 17. Comparación de los conteos de eosinófilos de acuerdo a la colonia reproductiva y el año de muestreo.....	117
Fig. 18. Comparación de los casos de basofilia respecto a las anomalías de la TSM a mediados y finales del embarazo. 0=Ausencia de basofilia 1=Presencia de basofilia.	119
Fig. 19. Comparación de los conteos de neutrófilos en banda respecto a las anomalías de la TSM en el embarazo y el periodo de muestreo. 0= Conteo de neutrófilos en banda dentro del rango normal, 1= Conteo de neutrófilos en banda por encima del rango normal.	121

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los ecosistemas marinos se han visto fuertemente afectados por variaciones climáticas locales y de gran escala, que han incrementado en los últimos años y que han persistido en el Océano Pacífico desde finales de 2013 hasta el presente (Bond *et al.*, 2014; Kintisch, 2015).

Durante el invierno de 2013, se registró un fenómeno de calentamiento anómalo en las temperaturas de la superficie del océano Pacífico Noroeste (Bond *et al.*, 2014; Jiménez-Quiroz *et al.*, 2019). Este fenómeno, conocido como “La Mancha” (The Blob, en inglés) generó incrementos de entre 2 a 5° C en el mar y se extendió desde el Golfo de Alaska y el Pacífico norte hasta alcanzar la parte occidental de California a mediados del 2014 (Jiménez-Quiroz *et al.*, 2019; Zaba y Rudnick, 2016). Por su parte, el evento de El Niño-Oscilación del Sur (ENSO, por sus siglas en inglés), de 2015-2016 generó anomalías en la temperatura superficial del mar, registrando una severidad máxima en noviembre del 2015 (Sakuma *et al.*, 2015). Actualmente se sabe que ambos eventos (ENSO y La Mancha) incidieron directa y severamente sobre la Corriente de California (Robinson, 2016), logrando alcanzar temperaturas superficiales marinas que excedieron en 4°C a la media de los registros históricos (Jiménez-Quiroz *et al.*, 2019; Bond *et al.*, 2014).

Las variaciones en la temperatura de la superficie del mar pueden impactar a la cadena trófica, dadas las extensas implicaciones que representan para diversas características del ecosistema, como la distribución de peces y zooplancton, cambios en los flujos de nutrientes (Beaugrand, 2003), distribuciones modificadas de clorofila (Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016), entre otros. El impacto también se observa en niveles tróficos altos, sobre todo en aquellos depredadores de hábitos costeros, como los mamíferos marinos de hábitos carnívoros.

El lobo marino de California (*Zalophus californianus*), pinnípedo que es residente permanente de la Corriente de California, depende directamente de ella para su reproducción y alimentación. Esto los convierte en excelentes especies indicadoras de los eslabones superiores de la cadena trófica (Melin *et al.*, 2012). Tomando esto en cuenta, en esta tesis se buscó investigar el efecto de las anomalías climáticas en diversos parámetros clínico-fisiológicos de las crías de esta especie.

II. ANTECEDENTES GENERALES

II.1. El lobo marino de California (*Zalophus californianus*)

En México, el lobo marino de California habita la costa este y oeste de la Península de Baja California. En la costa oeste se estima una población de 75,000 a 87,000 individuos (Lowry y Maravilla-Chávez, 2005) que habitan en ocho colonias reproductivas, mientras que en la costa este se estima que existen entre 24,000 y 31,000 individuos distribuidos en 13 colonias reproductivas (Szteren *et al.*, 2006).

Las poblaciones de *Zalophus californianus* en el Golfo de California, presentan una estructura poblacional de acuerdo a la colonia reproductiva a la que pertenecen. Este fenómeno de estructuración se ve influenciado principalmente porque presentan filopatría a las colonias, es decir, son fieles a los sitios de nacimiento, reproducción y alimentación (Wolf y Trillmich 2007). Las condiciones oceanográficas en las distintas regiones del Golfo de California y a nivel local, determinan el alimento al que las hembras adultas gestantes y lactantes tienen acceso, tomando en cuenta que ellas restringen su búsqueda espacial y temporalmente para mantenerse cerca (entre 50 y 100 km) de las colonias y alimentar a las crías que dependen totalmente de ellas (Campbell *et al.*, 2008). Sumado a esto, se ha registrado que en años donde hay un decremento en la cantidad de presas disponibles, las hembras viajan mayores distancias en búsqueda de alimento. Esto implica que tienen la habilidad de responder a la

variabilidad ambiental y modificar su comportamiento, con la finalidad de encontrar alimento para ellas y sus crías (Kuhn y Weise, 2007).

La temporada de reproducción de esta especie comienza a finales de junio. Las hembras comienzan a ovular aproximadamente 28 días posparto (Odell, 1981) por lo que en muchas ocasiones se embarazan pocos días después de haber parido. Esta especie presenta implantación retardada durante 3 meses (Robeck *et al.*, 2001); a partir de la concepción, el blastocisto se divide normalmente durante 5-8 días, después la división celular declina drásticamente (Daniel, 1971) y el embrión crece muy lentamente por varios meses (Harrison, 1968). El crecimiento normal es reactivado por la madre a partir de octubre (Robeck *et al.*, 2001) y los nacimientos ocurren a finales de junio y principios de julio del siguiente año. Las madres se quedan con las crías durante un periodo perinatal de 5-9 días y posteriormente comienzan a realizar viajes de alimentación al mar (Ofstedal *et al.* 1987; Boness y Bowen, 1996). La lactancia puede prolongarse de 6 a 12 meses y después de ser destetadas, las crías deben alimentarse por sí mismas (King 1983; Riedman 1990).

II.2. Periodos del embarazo

Greig y colaboradores (2007) llevaron a cabo un estudio para evaluar los niveles de progesterona y estrógeno en suero de hembras de *Z.californianus*, con la finalidad de determinar los cambios estacionales. Con base en los niveles hormonales, también fue posible determinar si las hembras estaban o no embarazadas, así como el periodo del embarazo en el que se encontraban (primer, segundo o tercer trimestre). Se determinó que el inicio del embarazo se presenta entre septiembre-noviembre debido a un fenómeno de implantación retardada; la mitad del embarazo se da en febrero-marzo y el final del embarazo ocurre entre abril-mayo. Los nacimientos ocurren desde inicios de junio hasta finales de julio (King, 1983) y coinciden con los viajes de investigación en los que se colectaron las muestras utilizadas para la presente tesis. Es por eso que los meses identificados en el

estudio de Greig y colaboradores (2007) se utilizaron para obtener las anomalías en la temperatura y analizar su efecto en la salud de las crías en estos periodos.

II.3. Amenazas a la especie en aguas mexicanas

Una de las amenazas a *Zalophus californianus* en aguas mexicanas es el enmallamiento e interacción con artes de pesca, aunque varía su riesgo por zonas. La incidencia de enmalle en la región centro y norte del Golfo de California es muy baja (Zavala y Mellink ,1997) y aunque en Los Islotes se encuentra el índice de enmalle más alto, este no se considera un riesgo para las poblaciones de lobo marino de California (Elorriaga-Verplancken, 2004). Se cree que los incidentes ocurren azarosamente y la mayor causa es la sobreposición de sitios de alimentación de la especie con las zonas de pesca (Aurioles-Gamboa *et al.*, 2003).

Otra amenaza es la alimentaria. La especie es considerada generalista, aunque tiene mayor afinidad por presas como la sardina, anchoveta y macarela. Los estados de Sonora, Sinaloa, Baja California y Baja California Sur son los de mayor volumen de producción pesquera en el país (CONAPESCA, 2020) y todos abarcan una porción del Golfo de California. Algunas de las presas mayormente consumidas por el lobo marino se consideran de interés comercial, provocando conflictos con la población pesquera en la región (Cuadro 1). Sumado a esto, la pesca de tiburón provocó un aumento en las poblaciones del calamar gigante, incrementando la competencia por las mismas presas que consume el lobo marino durante muchos años (Markaida, 2006; Gallo-Reynoso, 2019). Este fenómeno, la pesca industrial de pelágicos menores y los fenómenos de calentamiento (La Mancha y El Niño), han provocado efectos negativos drásticos en las poblaciones del lobo marino de California en México (Gallo-Reynoso, 2019).

Cuadro 1. Producción pesquera (peso vivo en toneladas) en Sonora, Sinaloa, Baja California y Baja California Sur, desde 2011-2020. Cuadro elaborado a partir del Anuario estadístico de acuicultura y pesca (CONAPESCA, 2020).

SONORA										
AÑO	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Sardina	382,016	409,767	441,371	257,971	253,228	228,309	385,248	320,114	296,644	373,102
Anchoveta	96,655	74,377	134,529	43,775	4,841	8,209	92,745	103,389	131,947	163,582
Macarela	13,304	13,106	3,222	40,487	46,119	63,969	63,154	94,934	85,934	42,364
SINALOA										
AÑO	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Sardina	139,437	152,522	137,309	107,438	78,585	56,511	81,274	82,378	82,773	79,375
BAJA CALIFORNIA										
AÑO	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Sardina	81,590	68,520	57,515	102,448	41,997	74,244	146,246	73,973	109,506	173,425
Anchoveta	2,042	2,099	2,716	617	29,234	5,590	17,574	48,841	40,739	11,587
Macarela	2,601	186	327	975	1,450	9,963	902	12,487	2,372	5,476
BAJA CALIFORNIA SUR										
AÑO	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Sardina	80,414	90,829	91,577	94,703	69,830	81,594	107,818	110,564	71,513	81,626
Macarela	616	3,188	6,062	1,282	3,954	7,395	2,586	1,715	11,759	33,842
TOTAL (4 ENTIDADES)	798,675	814,594	874,628	649,696	529,238	535,784	897,547	848,395	833,187	964,379

Los contaminantes también son una amenaza para la salud del lobo marino de California, dados los impactos que pueden tener sobre su sistema inmune y su salud (Desforges *et al.*, 2016; Bouquegneau *et al.*, 2002). El río Colorado desemboca en la región norte del Golfo, donde se han registrado altos niveles de selenio y pesticidas en animales como consecuencia de algunas prácticas agrícolas (García-Hernández *et al.*, 2001). La actividad minera de la zona también muestra efectos negativos. En las zonas aledañas a la antigua mina de cobre en Santa Rosalía se han detectado altas concentraciones de uranio a partir de núcleos de sedimentos marinos (Shumilin *et al.*, 2012). En La Bahía de la Paz donde se encontraba una mina de fosforita, también se han registrado altas concentraciones de Pb y Zn en ostras chocolate (Méndez *et al.*, 2006).

A partir de muestras de pelo de crías de esta especie se han detectado distintos metales traza como Hg, Se, Pb, Cu, Fe, y Zn, mostrando distintos valores en cada colonia reproductiva. En Los Islotes, Isla Granito y Rocas Consag se encontraron los niveles más alto de selenio y mercurio, los cuales mostraron una correlación positiva con el nivel trófico de las loberas y el tipo de alimentación (Elorriaga-Verplancken y Aurióles-Gamboa, 2008). Szteren y Aurióles-Gamboa (2013) también encontraron metales traza (Al, As, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Se y Zn) a partir de muestras de hueso, siendo el aluminio y zinc los elementos encontrados en mayor cantidad. La región centro tuvo más arsénico y cadmio, mientras que el norte y Ángel de la Guarda fueron mayormente afectados por el mercurio. A pesar de que no se cuenta con la información necesaria para determinar el daño real que estos elementos pueden causar, los autores sugieren que los individuos que habitan en las regiones con las mayores concentraciones podrían presentar una mayor susceptibilidad en su salud.

II.4. Movilidad de la especie

La especie migra de forma diferencial entre sexos, y también varía su ámbito hogareño. Los machos regresan a las zonas de reproducción en Baja California y California (Estados Unidos) durante la temporada reproductiva, posteriormente migran al Norte del continente (Aurioles *et al.*, 1983). Por su parte, las hembras se mantienen cerca de las colonias reproductivas toda su vida. Durante el invierno de 2003, 2004 y 2005 en la isla San Nicolás, Costa y colaboradores (2007) llevaron a cabo un estudio con telemetría para observar la distancia recorrida por las hembras. El promedio de todos los años determinó que pueden desplazarse 66.3 ± 11.0 km durante sus viajes de forrajeo. No obstante, al comparar las diferencias entre años, se observó que en 2004 (año en que aumentó la temperatura del mar y disminuyó la productividad primaria), las hembras viajaron mayores distancias, obteniendo un promedio de 102.2 km lejos de la colonia. El tiempo que pasaron viajando también aumentó en los años calientes, ya que en 2004 y 2005 se registraron viajes de alimentación de más de 50 horas.

II.5. Regionalización ecológica de las colonias reproductivas

Anteriormente, la población de *Z. californianus* en el Golfo de California se manejaba como una sola unidad, sin embargo, se han propuesto regionalizaciones del Golfo de California, ya que se ha demostrado que distintos parámetros biológicos y ecológicos, tienen un efecto directo en los sitios donde los lobos marinos habitan y se alimentan (Round, 1967, Álvarez-Borrego, 1983, Santamaría-del-Ángel *et al.*, 1994, Lluch-Cota y Arias-Aréchiga, 2000). Para fines de este trabajo se utilizó la regionalización de Szteren y colaboradores (2011), donde se tomaron en cuenta diferentes características de las colonias reproductivas de *Zalophus californianus*, tales como demografía, concentración de metales, clorofila y temperatura superficial del mar, isótopos estables, dieta e incidencia de enfermedades. Se distinguieron 4 regiones para separar a las 13 colonias reproductivas de acuerdo a sus semejanzas en los diferentes parámetros: Golfo Norte (Consag, San Jorge e Isla Lobos), Ángel

de la Guarda (Granito, Los Cantiles, Los Machos y El Partido), Golfo Central (San Esteban, San Pedro Mártir, Nolasco y El Rasito) y Golfo Sur (Farallón de San Ignacio y Los Islotes) (figura 1).

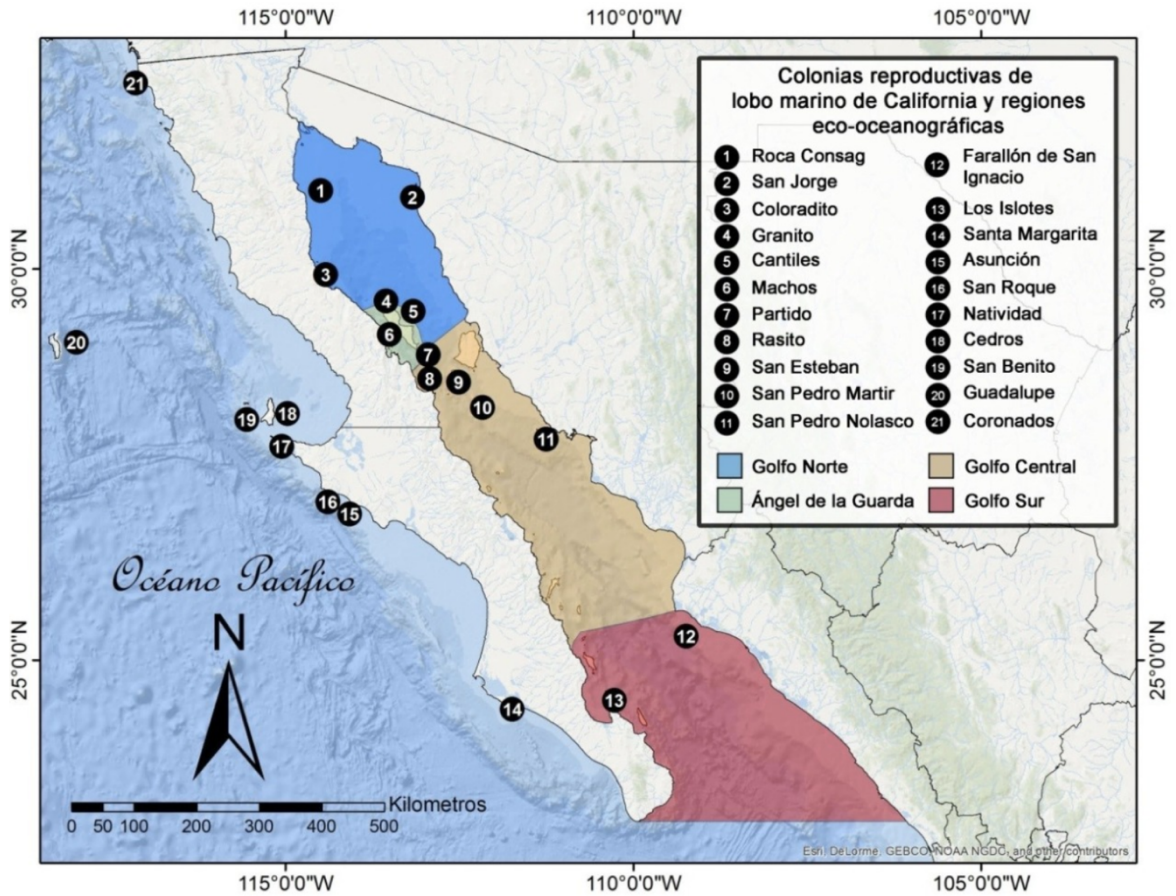


Fig. 1. Colonias reproductivas del lobo marino de California en México y su regionalización. Imagen de Soto-García (2016).

II.6. Área de estudio

II.6.1. El Océano Pacífico (Archipiélago de San Benito)

Esta colonia reproductiva se encuentra fuera del Golfo de California y está en contacto directo con el océano Pacífico. Presenta una gran influencia de la Corriente de California, la Subcorriente de California y la Contracorriente de California, las

cuales son modificadas estacional e interanualmente (Durazo *et al.*, 2005). Las aguas subárticas predominan durante la primavera y el verano, mientras que las aguas tropicales se observan principalmente en verano y otoño (Lynn y Simpson, 1987; Durazo, 2009). Además, se considera una zona de transición, donde el agua fría y fresca de la Corriente de California se mezcla con las aguas tropicales y subtropicales más calientes y saladas (Durazo y Baumgartner, 2002). El archipiélago San Benito se encuentra en contacto directo con la porción sur de la Corriente de California, la cual difiere de la porción Norte y centro ya que presenta temperaturas relativamente calientes (Weber *et al.*, 2021).

La corriente de California, en general, se ha visto fuertemente afectada por fenómenos que han sido recurrentes en los últimos años. A finales del 2013 se registró la formación de una gran masa de agua caliente conocida como “La mancha” (Bond *et al.*, 2015) y en 2015-2016 se registró un evento “El Niño” muy severo (Jacox *et al.*, 2016). Las condiciones oceanográficas de la corriente de California se recuperaron durante 2017-2018 (Wells *et al.*, 2017; Thompson *et al.*, 2018), no obstante, entre 2018-2020 nuevamente se registraron eventos de “El Niño” y “La Niña” (de menor severidad) (Thompson *et al.*, 2019), así como la formación de una ola de calor marina en el Pacífico Norte durante 2019 (Amaya *et al.*, 2020).

El problema asociado a fenómenos como El Niño, es que provocan el debilitamiento de los vientos alisios y el hundimiento de la termoclina en el Pacífico este. Por esta razón las surgencias costeras no permiten que el agua fría y con nutrientes suba a la superficie, por lo que la productividad primaria y toda la red trófica se ve afectada (Arntz *et al.*, 1991). Sumado a esto, se cree que durante fenómenos de calentamiento, el núcleo de la Corriente de California es desplazado y se favorece la entrada de aguas tropicales y subtropicales (más calientes y saladas) a la costa de Baja California (Durazo y Baumgartner, 2002).

II.6.2. El Golfo de California

El Golfo de California es una cuenca oceánica semicerrada. Se encuentra entre la península de Baja California y la porción continental mexicana, mide 1130 km de largo y 80-209 km de ancho (Jiménez y Parés-Sierra, 2005). Su circulación es provocada principalmente por: (1) la interacción de la boca del Golfo - océano Pacífico; (2) los vientos que interactúan con la superficie (Ripa, 1997; Marinone, 2003) y los flujos de evaporación y precipitación constantes (Castro *et al.*, 2000; Lavín, 2002; Jiménez *et al.*, 2005).

También presenta variabilidad estacional. Entre noviembre y mayo, los vientos del noroeste generan surgencias y esto provoca el aumento en la productividad primaria en invierno y primavera (Zeitzschel 1969; Merrifield y Winant 1989; Hidalgo-González y Álvarez-Borrego 2004). Entre julio y octubre, los vientos del sureste provocan la entrada de aire húmedo, la temperatura superficial aumenta, y disminuyen los nutrientes (Merrifield y Winant 1989; Hidalgo-González y Álvarez-Borrego 2004; Roden, 1964). Sumado a esto, el agua Superficial del Pacífico Tropical entra en el Golfo alcanzando la región de las grandes islas, mientras que en invierno únicamente alcanza la boca del Golfo (Alvarez-Borrego y Schwartzlose, 1979). En el sur de esta región se encuentra la Zona Mínima de Oxígeno, que ha aumentando drásticamente su temperatura en la capa superior (50 m) de la porción sur de la Corriente de California y el Sur del Golfo de California, provocando una mayor estratificación de la columna de agua y pérdida de oxígeno (Sánchez-Pérez *et al.*, 2021).

II.6.2.1. El Norte (Consag, San Jorge e Isla Lobos)

En esta región se encuentran las zonas menos profundas de todo el Golfo (Carrillo y Palacios-Hernández, 2002) y existe un giro permanente con circulación anticiclónica en invierno y ciclónica en verano (Marinone y Lavín, 1997; Makarov y Jiménez-Illescas, 2002). Ya que colinda con la desembocadura del Río Delta, en esta zona se han detectado elevadas concentraciones de Selenio y organoclorados,

convirtiéndola en una de las regiones más contaminadas del Golfo (García-Hernández *et al.*, 2001). El viento provoca una circulación importante y la productividad es alta debido a las fuertes mezclas de marea (Santa-María-Del-Angel *et al.*, 1994; Maluf 1983; Marinone, 2003). La concentración de clorofila en invierno en Consag es de 3.53 mg m^{-3} , en San Jorge 2.21 mg m^{-3} y en Lobos 2.29 mg m^{-3} (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011). Las tendencias poblacionales de *Z. californianus* en esta región actualmente están incrementando (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011).

II.6.2.2. Ángel de la Guarda (Granito, Los Cantiles, Los Machos y El Partido)

En esta región se forma un archipiélago que contiene canales, cuencas y dos grandes islas: Ángel de la Guarda y Tiburón. Las corrientes de marea son muy intensas por lo que se presenta un efecto constante semejante a las surgencias (Argote *et al.*, 1995; Álvarez-Borrego, 2010). Por lo tanto, esta región presenta el promedio más alto en la productividad primaria y clorofila (Escalante-Almazán, 2013) y el promedio más bajo de la temperatura superficial del mar en todo el Golfo (Álvarez-Borrego y Schwartzlose 1979; Escalante-Almazán, 2013). No obstante, en verano la clorofila y productividad primaria pueden disminuir hasta un 40% (Escalante-Almazán, 2013). La concentración de clorofila en invierno en Granito y Cantiles es de 1.40 mg m^{-3} , en Machos 1.43 mg m^{-3} y en Partido 1.49 mg m^{-3} (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011).

Durante el Niño 1983-1984, los efectos fueron enmascarados gracias a la gran mezcla de mareas. En el Canal de Ballenas incluso se registró un aumento en la cantidad de fitoplancton y clorofila a (Santamaría-del-Ángel *et al.*, 1994), razón por la que se considera que esta región podría ser un refugio para muchas especies ante un fenómeno de calentamiento (Tershy *et al.*, 1991). Las tendencias poblacionales de *Z. californianus* en esta región están disminuyendo (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011).

II.6.2.3. El Centro (San Esteban, San Pedro Mártir, San Pedro Nolasco y Rasito)

La región central presenta valores intermedios de temperatura superficial, clorofila y productividad primaria (Escalante-Almazán, 2013). La concentración de clorofila en invierno en San Esteban es de 1.74 mg m^{-3} , en San Pedro Mártir de 1.91 mg m^{-3} , en San Pedro Nolasco de 2.19 mg m^{-3} y en Rasito de 1.49 mg m^{-3} (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011). En el verano el Agua Superficial Ecuatorial alcanza la región central (Álvarez-Borrego y Schwartzlose 1979, Torres-Orozco 1993) por lo que la temperatura superficial no difiere respecto a la boca del Golfo (Escalante-Almazán, 2013). No obstante, en invierno y primavera se generan surgencias que aumentan la clorofila y productividad primaria en el centro (Roden 1964; Escalante-Almazán, 2013). Durante fenómenos como El Niño, las condiciones oceanográficas de esta zona amortiguan sus efectos negativos (Ripa y Marinone, 1989; Valdez-Holguín y Lara-Lara 1987). Las tendencias poblacionales de *Z. californianus* en esta región se modifican, aunque también se consideran en aumento (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011).

II.6.2.4. El Sur (Islotes y Farallón San Ignacio)

En la boca del golfo, las condiciones son muy parecidas a las del océano Pacífico ya que ingresa el Agua Superficial Ecuatorial, la cual es más caliente y baja en nutrientes (Álvarez-Borrego y Schwartzlose 1979, Torres-Orozco 1993). Además, en esta zona la estratificación de la columna de agua es mayor (principalmente en verano) (Álvarez-Borrego y Lara-Lara 1991), por lo que presenta los valores más bajos de clorofila y productividad primaria en el Golfo (Escalante-Almazán, 2013). La concentración de clorofila en invierno en Islotes es de 1.28 mg m^{-3} y en Farallón San Ignacio de 1.95 mg m^{-3} (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011). En Islotes la población de lobo marino actualmente incrementa (Szteren y Auriolles-Gamboa, 2011).

II.7 Alimentación

El lobo marino de California se considera un oportunista plástico, es decir, que consume diversas presas dependiendo de la disponibilidad (Lowry *et al.* 1991). No obstante, se ha identificado que su dieta depende principalmente de 2-5 especies (Lowry *et al.* 1991; Weise y Harvey 2008; Orr *et al.* 2011). Las presas consumidas difieren dependiendo de la colonia reproductiva, dadas las diferencias en las condiciones oceanográficas. Sumado a esto, la estacionalidad y los patrones migratorios de los peces también provocan un cambio en la composición de la dieta (García-Rodríguez, 1999; García-Rodríguez y Aurióles-Gamboa, 2004). En el cuadro 2 se muestran las principales presas consumidas por esta especie en las loberas estudiadas en este trabajo.

Cuadro 2. Principales presas consumidas por *Z. californianus* durante 1995-1996, 42001 y 2002 en las colonias reproductivas estudiadas. Cuadro elaborado a partir de los datos de García-Rodríguez, 1999, García-Rodríguez y Auriolos-Gamboa, 2004, Porras-Peters y colaboradores (2008), Auriolos-Gamboa y Camacho-Ríos, 2007.

Región	Colonia	PRESAS PRINCIPALES 1995-1996	PRESAS PRINCIPALES EN LA TEMPORADA REPRODUCTIVA 2002
Sur	Islotes	-	<i>Abraliopsis affinis</i> , <i>Engraulis mordax</i> , <i>Serranus aequidens</i> , <i>Synodus</i> spp.
Sur	Farallón San Ignacio	-	<i>Cynoscion parvipinnis</i> , <i>Porichthys</i> spp.
Centro	Nolasco	-	<i>Abraliopsis affinis</i> , <i>Cetengraulis</i> <i>mysticetus</i> , <i>Haemulopsis leuciscus</i> .
Centro	San Pedro Mártir	<i>Engraulis mordax</i> , <i>Porichthys</i> spp., Mictófidos	<i>Leachia</i> spp.
Centro	San Esteban	<i>Sardinops caeruleus</i> y mictófidos	<i>Trachurus symmetricus</i> , <i>Myctophidae</i> , <i>Haemulopsis leuciscus</i> , <i>Merluccius angustimanus</i> .
Centro	Rasito	<i>Sardinops caeruleus</i> , <i>Trachurus symetricus</i> , mictófidos	<i>Sardinops sagax</i> , <i>Trachurus</i> <i>symmetricus</i> , <i>Porichthys</i> spp.
Centro	Partido	-	<i>Engraulis mordax</i> , <i>Sardinops sagax</i> , <i>Scomber japonicus</i> , <i>Haemulon</i> spp.
Ángel	Cantiles	<i>Trichiurus lepturus</i> , <i>Porichthys</i> spp.	<i>Trichiurus lepturus</i> , <i>Citharichthys</i> <i>stigmaeus</i> , <i>Porichthys</i> spp.
Ángel	Machos	<i>Sardinops caeruleus</i> , <i>Scomber japonicus</i> .	-
Ángel	Granito	<i>Trichiurus lepturus</i> , <i>Engraulis mordax</i> .	-
Norte	Lobos	<i>Trichiurus lepturus</i> , <i>Porichthys</i> spp., <i>Cetengraulis mysticetus</i>	<i>Cetengraulis mysticetus</i> , <i>Myctophidae</i> , <i>Porichthys</i> spp.
Norte	Rocas Consag	-	<i>Cetengraulis mysticetus</i> , <i>Trichiurus</i> <i>lepturus</i> , <i>Lolliguncula</i> spp.
Pacífico	San Benito	-	<i>Merluccius angustimanus</i> (2001), <i>Loligo opalescens</i> (2001), <i>Argentina</i> <i>sialis</i> (2002).

Las crías de *Z. californianus* han experimentado desnutrición asociada a las variaciones climáticas (Banuet-Martínez *et al.*, 2017) a consecuencia de la disminución de productividad primaria en las zonas de alimentación de las madres (Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016). Esto conlleva a que sus hábitos de alimentación sean modificados (Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016) y que las madres tengan la necesidad de desplazarse mayores distancias para hallar a sus presas primarias o que elijan presas con menor grado alimenticio (Kuhn y Costa, 2014). De esta forma, el decremento del tiempo que las hembras pasan en tierra alimentando a las crías, así como la cantidad y calidad de la leche (Rietz-Sapriza *et al.*, 2012) tienen un impacto negativo directo en los parámetros corporales de las crías de lobo marino de California.

Robinson y colaboradores (2018), compararon las presas consumidas por el lobo marino de California en la isla Año Nuevo, Estados Unidos. Ellos observaron que a finales de los 90's, la anchoveta y sardina eran las principales presas del lobo marino de California, pero a partir del 2000 aumentó la cantidad de rocote, calamar comercial y jurel. La anchoveta y la sardina se consideran alimento con gran cantidad de grasas y proteínas (Sidwell *et al.* 1974; Costa *et al.* 1991), a comparación de las otras especies (Costa *et al.* 1991), por lo que consumir presas de menor grado alimenticio podría tener efectos negativos. En el lobo marino de Steller juveniles, se han realizado experimentos donde se manipuló su alimentación. Individuos en cautiverio comenzaron a ser alimentados con presas de bajo nivel energético como el pez carbonero y calamar. Tras dos semanas de haber modificado sus presas, perdieron entre el 7 y 12% de su masa corporal, lo cual fue provocado por la depresión de su metabolismo (Rosen y Tristes, 2002).

En el Archipiélago San Benito, Elorriaga-Verplancken y colaboradores, registraron en 2015 un decremento en la presencia de crías del 61.7% y una disminución de la masa corporal de éstas (en comparación a los registros del 2014). En 2016 se registró una disminución del 77% de crías, respecto a los registros del 2014 y 2015 (Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016). Sumado a esto, se ha registrado desde 2013

un decremento en las presas primarias de los lobos marinos de California, entre ellas *Sardinops sagax*, *Engraulis mordax* y *Merluccius productus* (Sakuma *et al.*, 2015). Además, recientemente, Adame y colaboradores (2020) estimaron la población total de lobos marinos en el Golfo de California, a partir de una serie temporal de 42 años. En los últimos 28 años, se estimó un decremento del 65.2% de la población de lobos marinos, por lo que se propone que la especie es vulnerable a los cambios ambientales.

III. JUSTIFICACIÓN

En el contexto actual de cambios ambientales ecosistémicos, es relevante identificar parámetros biológicos en especies centinelas que permitan monitorear los cambios de manera oportuna. Dado que los factores ambientales influyen en la alimentación y fisiología de las hembras de lobo marino de California y que las crías son dependientes de la leche materna durante sus primeros cinco meses de nacimiento, parámetros fisiológicos, corporales y de salud de las crías de lobo marino de California, podrían ser indicadores de las variaciones en la temperatura superficial del mar. De ser así, sería posible hacer monitoreos del impacto de las variaciones climáticas en el ecosistema marino de la Península de Baja California a través de análisis clínico-fisiológicos en esta especie.

IV. HIPÓTESIS GENERAL

El incremento en las anomalías en la temperatura superficial del mar impacta negativamente en la condición corporal y salud de las crías de lobo marino de California.

V. OBJETIVO GENERAL

Explorar la relación que existe entre las anomalías en la temperatura superficial del mar y diversos parámetros clínico-fisiológicos en neonatos de *Zalophus californianus*.

VI. METODOLOGÍA GENERAL

Durante los veranos de 2012-2020 se llevaron a cabo expediciones científicas en las 13 colonias del Golfo de California y en la Isla de San Benito, localizadas dentro del territorio mexicano y cuyas coordenadas se especifican en el cuadro 3. Durante estos viajes se capturaron crías neonatas de lobo marino, utilizando redes de captura para pinnípedos. Cada animal se inmovilizó de forma manual, se tomaron muestras de sangre y se registraron datos como: edad aproximada (meses), sexo, longitud total (cm) y masa (kg). También se obtuvieron muestras de sangre, las cuales se utilizaron para obtener suero y elaborar frotis sanguíneos. Con la intención de reducir al mínimo la fatiga y estrés, se mantuvo a las crías en un espacio con sombra y agua, hasta el momento de su manejo. En todo momento se supervisaron parámetros directos (temperatura corporal) e indirectos (movilidad, vocalización, entre otros), verificando su bienestar. Todos los muestreos realizados entre el 2012 y el 2020 se llevaron a cabo con aprobación previa del Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro y bajo los permisos de colecta de la Dirección General de Vida Silvestre (DGVVS) de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT): SGPA/DGVVS/11744/2014, SGPA/DGVVS/00195/2015, SGPA/DGVVS/00091/2017, SGPA/DGVVS/02460/2018, SGPA/DGVVS/06143/2019 y SGPA/DGVVS/11794/2020.

Cuadro 3. Coordenadas geográficas de las colonias reproductivas y años donde se llevó a cabo la toma de muestras.

Colonia	Región	Latitud	Longitud	Año (muestreo)
Coloradito o Lobos	Norte, GDC.	30.051685°	-114.48896°	2013, 2016,
San Jorge	Norte, GDC.	31.013966°	-113.24425°	2016, 2020
Rocas Consag	Norte, GDC.	31.2036111°	-114.68027°	2013, 2016, 2020
Granito	Ángel de la Guarda, GDC.	29.564595°	-113.53944°	2012, 2013, 2016
Cantiles	Ángel de la Guarda, GDC.	29.506521°	-113.44709°	2013, 2016, 2020
Machos	Ángel de la Guarda, GDC.	29.293359°	-113.50077°	2016
Partido	Ángel de la Guarda, GDC.	28.912237°	-113.04350°	2013, 2016
Rasito	Centro, GDC.	28.836917°	-112.99865°	2016
San Esteban	Centro, GDC.	28.700813°	-112.57637°	2016, 2020
San Pedro Martir	Centro, GDC.	28.380121°	-112.30640°	2016
San Pedro Nolasco	Centro, GDC.	27.966621°	-111.37827°	2016, 2020
Farallón de San Ignacio	Sur, GDC.	25.437425°	-109.37787°	2016
Los Islotes	Sur, GDC.	24.599018°	-110.40151°	2014, 2016, 2020
Archipiélago de San Benito	Pacífico	28.3036°	-115.5887°	2014, 2015, 2017, 2018, 2019

GDC= Golfo de California.

VI. 1. Determinación de las anomalías en la temperatura superficial del mar

1.- En la biblioteca digital de mapas (INEGI), se descargaron archivos *shape* de la división política mexicana, incluyendo las islas e islotes de México.

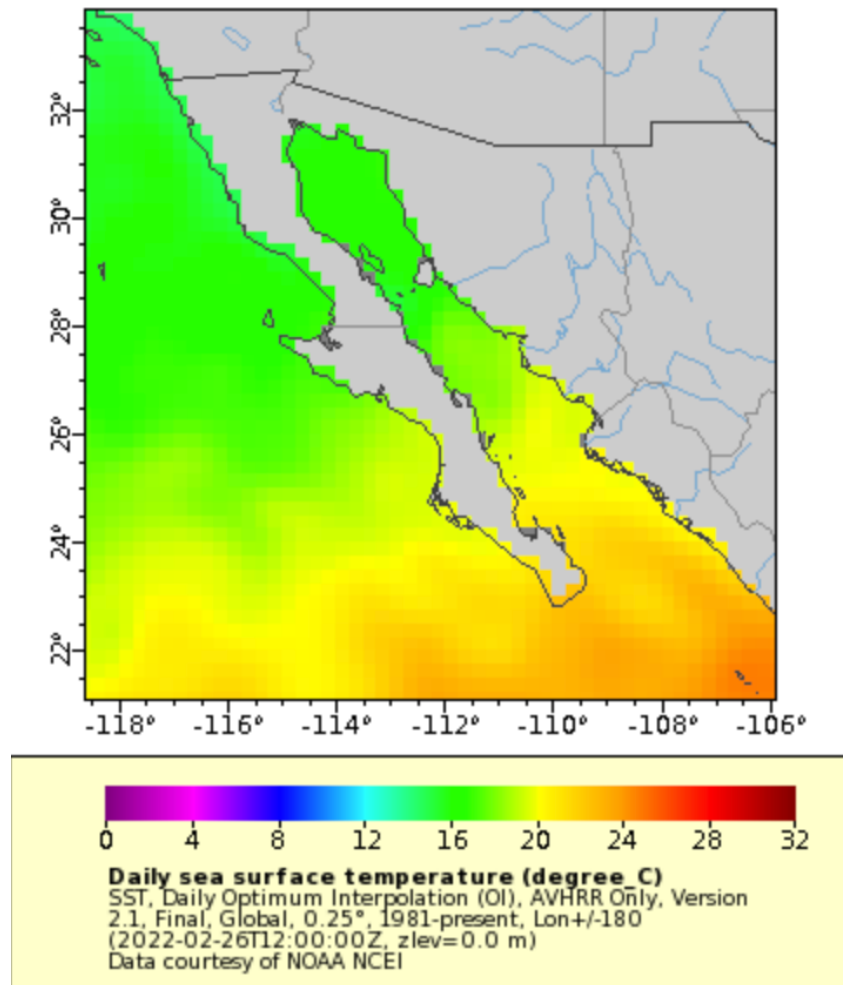
2.- Las colonias reproductivas que no se encontraron en los archivos fueron digitalizadas. Para esto, se localizaron los puntos en Google Earth Pro, utilizando la herramienta “Agregar marca de posición” y colocando la latitud y longitud de cada colonia. Posteriormente cada lugar se guardó como un archivo con extensión .kmz.

3.- Utilizando QGIS, se generaron archivos *shape* de cada colonia reproductiva (ya fueran polígonos o puntos), considerando la zona de proyección de la UTM (11N o 12N).

4.- Utilizando la opción “Buffer”, se generaron polígonos que incluyeran un radio de 100 km a la redonda de cada colonia reproductiva, considerando que se ha demostrado que las hembras de *Z. californianus* pueden recorrer distancias <100 km en búsqueda de alimento cuando incrementa la TSM (Costa *et al.*, 2007). Mediante la herramienta “Diferencia”, se eliminaron las zonas del buffer que pertenecían al continente, obteniendo un área que solo incluyera datos oceánicos. Para aquellos buffer donde se intersectaron temperaturas del océano Pacífico, se utilizó la herramienta de geometría “Multiparte a monoparte”. Se seleccionó únicamente el polígono con las temperaturas deseadas, y se creó un nuevo *shape* guardando los objetos espaciales seleccionados.

4.- Se accedió a NOAA ERDDAP (Simons, 2020), donde se eligió la base de datos “SST, Daily Optimum Interpolation (OI), AVHRR Only, Version 2.1, Final, Global, 0.25°, 1981-present, Lon+/-180 “ (NOAA/NCEI, 2021). Utilizando la herramienta “Make a graph”, se seleccionó una zona en la que se incluyera al Pacífico y Golfo de California (fig. 2). Se seleccionaron tres periodos para cada año (2012-2020) que corresponden al inicio, mediados y finales del embarazo de las hembras (septiembre-noviembre, enero-febrero, abril-mayo), así como la temporada en que

nacieron las crías y se obtuvieron las muestras (junio-julio). Se descargaron las bases de datos en formato .csv, y se eliminaron las celdas vacías.



Latitud (Grados Norte)	21.125	33.875
Longitud (Grados Este)	-118.625	-105.875

Fig. 2. Coordenadas seleccionadas para la descarga de las anomalías en la TSM en el Golfo de California y el Archipiélago San Benito.

5.- Mediante QGIS, las bases de datos se añadieron como capas de texto delimitado y se generaron shapes de puntos.

6.- Usando la herramienta de “Corte”, se extrajeron las anomalías de temperatura que se encontraran dentro de los buffer (con radio de 100 km) previamente generados para cada colonia reproductiva.

7.- A partir de la tabla de atributos de cada buffer de las colonias, se obtuvieron las anomalías en la TSM para cada periodo del embarazo de las hembras, desde 2012-2020.

CAPÍTULO 1: CONDICIÓN CORPORAL Y CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE GLUCOSA EN CRÍAS DE *Zalophus californianus*

1.1 INTRODUCCIÓN

Durante el primer trimestre de la gestación humana, ocurre el desarrollo completo de los órganos fetales, posteriormente, en el segundo y tercer trimestre, aumentan su tamaño y masa corporal (Bogin, 1999). Dado que el útero provee un ambiente estéril para el embrión, esto les permite utilizar toda la energía para crecer y desarrollarse. No obstante, el momento del parto representa un cambio abrupto para las crías recién nacidas, ya que deben enfrentarse a un ambiente totalmente nuevo (Wilson, 1990). De acuerdo a Oftedal (1987), la mayor parte de la energía transferida a través de la leche en lobo marino es utilizada para los procesos metabólicos necesarios (ej. termorregulación) y muy poca para crecer. Sumando al estrés post-parto, en años donde se presentan anomalías en la temperatura, las hembras deben aumentar su esfuerzo alimenticio y por lo tanto pasar más tiempo lejos de sus crías, por lo que aumenta la probabilidad de que las crías mueran por hipotermia, trauma, infecciones o desnutrición (Ono *et al.*, 1987; Trillmich, 1985).

El impacto de las anomalías climáticas parece ir más allá de la demografía. Un estudio que se llevó a cabo con crías neonatas de lobo marino de California en el Archipiélago de San Benito reportó una reducción del 15% en los niveles de glucosa en 2014 y 2015 (años con anomalías en las temperaturas de la superficie del mar), respecto a los datos del 2012 (año de temperaturas normales) en Granito. La condición corporal de las crías que nacieron en 2014 y 2015 fue menor con respecto a las que nacieron en 2012. Además, la condición corporal de las crías predijo la cantidad de glucosa en los individuos (Banuet-Martínez *et al.*, 2017). En otro estudio se estudiaron marcadores de estrés y metabolismo en lobos marinos de California juveniles. Los resultados mostraron que el cortisol y la glucosa se encuentran positivamente correlacionados y ambos fueron más altos en 2015 respecto a 2016,

por la posible supresión del eje hipotalámico-pituitario-adrenal en el segundo año de muestreo (DeRango *et al.*, 2019).

En mamíferos marinos, como los elefantes marinos y los delfines, se ha observado un aumento en la producción endógena de glucosa, así como hiperglucemia moderada a consecuencia del ayuno (Houser *et al.*, 2013; Houser *et al.*, 2021; Champagne *et al.*, 2005; Champagne *et al.*, 2006). En crías de lobo marino de Steller en cautiverio no se observó un cambio en la concentración de glucosa en plasma durante los 2.5 días de ayuno, pero sí una disminución respecto a los animales que tenían poco tiempo de haber comido (Rea *et al.*, 2000).

Fravel y colaboradores (2012) administraron dextrosa en lobos marinos de California juveniles con la finalidad de comprender la cinética de la glucosa. Se observó un aumento en la glucosa en sangre tras una noche de ayuno, por lo que dicha respuesta fue comparada con el metabolismo del delfín (*Tursiops truncatus*) en el que se ha observado resistencia a insulina e hiperglicemia bajo estas condiciones (Venn-Watson *et al.*, 2011). Durante los 90's se registró un aumento en la concentración de glucosa en crías huérfanas (n=4) con ayuno prolongado respecto a neonatos sanos de la misma región (n=29), sin embargo, las diferencias entre ambos grupos no fueron significativas. No obstante, en el mismo estudio se encontraron diferencias en la concentración de glucosa de las crías dependiendo del área en que se hicieron los muestreos (Rea *et al.*, 1998; Strick, 1997).

Por otro lado, el hecho de que los estresores se vuelvan cada vez más recurrentes y por lo tanto cíclicos, puede provocar un cambio adaptativo en las especies (Boonstra, 2013). Esto puede ocurrir incluso desde el desarrollo embrionario de un organismo. Una dieta baja en proteína durante la gestación en ratas, mostró un aumento de los hepatocitos periportales (las cuales producen la enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinasa) y una disminución de los hepatocitos perivenales (que producen la enzima glucoquinasa). El resultado de esto, es un aumento de la

glucosa en el organismo y una menor degradación de ésta al nacer (Desai *et al.*, 1995; Jungermann, 1986).

1.1.1. La leche materna y su relación con la condición corporal de las crías

La lactancia es uno de los momentos energéticamente más costosos durante la reproducción de los mamíferos (Gittleman y Thompson, 1988) ya que las crías demandan una gran cantidad de nutrientes para su crecimiento. Si dicha demanda no puede cumplirse a partir del alimento consumido por la madre, es necesario que las reservas energéticas de sus tejidos sean movilizadas (Oftedal, 2000).

La composición de la leche materna puede variar de acuerdo a la etapa de lactancia en que se encuentre la cría, así como la condición y dieta de la madre (Oftedal, 2011). El aporte calórico de cada presa consumida por la hembra lactante dependerá de la proporción de macronutrientes (Cuadro 4), donde que las grasas aportan la mayor cantidad de calorías (9.0 kcal/g), seguido por las proteínas y carbohidratos (4.0 kcal/g) (FAO, 2003).

Cuadro 4. Información nutrimental de las principales presas consumidas por el lobo marino de California. Los valores corresponden al contenido de nutrientes en una porción de 100g. Elaborado a partir de los datos de NOAA Fisheries (2022).

Especie	Calorías	Proteínas	Grasas	Carbohidratos
Sardina del Pacífico (<i>Sardinops sagax</i>)	217	24.58 g	12.37 g	0 g
Anchoveta (<i>Engraulis mordax</i>)	131	20.35 g	4.84 g	0g
Macarela del Pacífico (<i>Scomber japonicus</i>)	158	20.07 g	7.89 g	0 g
Merluza (<i>Merluccius sp.</i>)	90	18.31 g	1.31 g	0 g
Calamar (<i>Loligo opalescens</i>)	92	15.58 g	1.38 g	3.08 g

Las hembras lactantes de lobo marino de California buscan alimento cerca de las colonias reproductivas, ya que los neonatos se alimentan únicamente de la leche (Feldkamp *et al.*, 1989). De esta manera, el tamaño de las crías al nacer refleja el éxito alimenticio que tuvieron las hembras durante todo su embarazo (Le Boeuf *et al.*, 1972; Crocker *et al.*, 2001; Le Boeuf y Crocker, 2005), mientras que el crecimiento durante la lactancia es un reflejo directo de la energía que le está transfiriendo su madre y del alimento disponible localmente (Costa *et al.* 1989, Boness *et al.* 1991, Lunn y Boyd 1993).

Las crías no reciben alimento durante los viajes de sus madres al mar, por lo que pueden pasar periodos de ayuno cortos a prolongados, dependiendo del alimento disponible en las zonas aledañas (Oftedal *et al.*, 1987; Rea *et al.*, 2000). Cuanto mayores sean las reservas de grasa proporcionadas por la leche materna, los neonatos podrán ahorrar más proteínas e incluso tolerar períodos de ayuno más prolongados (Arnould *et al.*, 2001; Carlini *et al.*, 2001; Noren *et al.*, 2003, 2008; Rea y Costa, 1992).

La composición de la leche en el lobo marino de Nueva Zelanda se ve afectada por las características maternas y por variaciones interanuales. Riet-Sapriza y colaboradores (2012) encontraron una correlación positiva entre la condición corporal de las hembras lactantes y la concentración de lípidos, proteína y energía en la leche, por lo que a mayor condición corporal mayor calidad en la leche. También observaron que los años donde la leche tuvo menos proteínas, lípidos y energía, coincidieron con los años con menores tasas de crecimiento reportadas en las crías.

Rea y colaboradores (2000), determinaron una pérdida del $5.1 \pm 0.3\%$ de la masa de las crías de lobo marino de Steller, tras un ayuno de dos días. Además se observó un aumento del nitrógeno uréico, lo cual indica que las crías habían comenzado a degradar sus reservas de proteínas a los 2.5 días tras el agotamiento de sus lípidos. Esto es totalmente contrario a lo que ocurre con algunas especies

de focas, donde su mayor tamaño y reservas de lípidos, les permite “ahorrar” proteínas y sobrellevar un ayuno más prolongado. Por ejemplo, en las crías de elefante marino del norte se ha observado que aquellos individuos con mayor masa (al destete) tienen una mejor capacidad para ahorrar sus reservas proteicas (Rea 1995).

Por esta razones, la morfometría de las crías de otáridos es de gran importancia y utilidad para detectar modificaciones en las presas que están consumiendo las madres (Luque y Auriolles-Gamboa, 2001). En este trabajo se utilizó la condición corporal para determinar las reservas energéticas de las crías de lobo marino de California. Este índice refleja la energía acumulada en el cuerpo obtenida a partir de la alimentación (Peig y Green, 2009) y se calcula a partir de la masa y longitud total del individuo, por lo que es un método eficaz y poco intrusivo en animales de vida libre.

1.1.2. La glucosa sanguínea y su metabolismo

La leche de *Z. californianus* está compuesta por un 45.8% de agua, 43.7% grasas, 8.9% proteínas y 0.6% azúcares. Ya que carece de lactosa se cree que el carbohidrato principal es el inositol (Dosako *et al.*, 1983), sin embargo, el contenido es mínimo, por lo que la gluconeogénesis juega un papel fundamental al obtener la glucosa que necesita el cerebro, las células rojas y otros tejidos en la cría. Por esta razón, la oxidación de grasas y proteínas son fundamentales para obtener glicerol y aminoácidos glucogénicos, los cuales son los precursores para la síntesis de glucosa (Hall *et al.*, 1976; Jungas *et al.*, 1992).

La gluconeogénesis es el proceso mediante el cual se obtiene glucosa a partir de sustratos no-carbohidratos y ocurre en muchos organismos, por ejemplo, durante periodos de ayuno o cuando los carbohidratos en la dieta no son suficientes. Este proceso conlleva diferentes reacciones (Melkonian *et al.*, 2022):

1. El piruvato es carboxilado para formar **oxalacetato** en la mitocondria, después se descarboxila para formar fosfoenolpiruvato (PEP) en el citosol.
2. El fosfoenolpiruvato (PEP) es hidratado para formar 2-fosfoglicerato, el cual será convertido a 3-fosfoglicerato y posteriormente será fosforilado para obtener 1,3-bifosfoglicerato.
3. El 1,3-bifosfoglicerato será reducido a gliceraldehído 3-fosfato, que será isomerizado en **dihidroxiacetona-fosfato**.
4. El gliceraldehído 3-fosfato y la dihidroxiacetona-fosfato serán combinados para formar fructosa 1,6-bifosfato, que será desfosforilada para crear fructosa-6-fosfato.
5. La fructosa-6-fosfato es convertida en glucosa-6-fosfato que al ser desfosforilada forma la glucosa que circula en el torrente sanguíneo.

La lipólisis es la vía mediante la cual las lipasas hidrolizan los triglicéridos (TAG) a ácidos grasos no esterificados (NEFAS) y glicerol, los cuales circularán en el torrente sanguíneo hasta llegar al hígado (Grabnet *et al.*, 2021). Durante la gluconeogénesis, el glicerol es fosforilado a glicerol-3-fosfato y se oxida a **dihidroxiacetona-fosfato**, el cual funcionará como intermediario en las reacciones de la gluconeogénesis descritas anteriormente (Bhagavan y Ha, 2011). También la glucosa se obtiene a partir de los aminoácidos glucogénicos. Éstos se obtienen del catabolismo de las proteínas y a partir de cada aminoácido, dependiendo de su estructura, se obtendrán sustratos que funcionarán como precursores de la glucosa (α -cetoglutarato, succinil-CoA, fumarato, piruvato y oxalacetato) (Newsholme *et al.*, 2011).

Muchos animales pasan por procesos de ayuno, principalmente por la variación temporal de alimento y procesos naturales de crecimiento-reproducción. Esto conlleva una disminución de la tasa metabólica y modificaciones en la forma en que se utilizan las reservas corporales (Adams y Costa, 1993). En el caso del elefante marino del norte, la mayor parte de su energía se provee a partir de la oxidación de

ácidos grasos (Houser *et al.*, 2013), donde los ácidos grasos no esterificados (producidos mediante la lipólisis) se oxidan y generan acetil-coenzima A, la cual entrará a ciclo de Krebs y permitirá producir ATP (Kumari, 2018).

De esta manera, en las primeras etapas del ayuno en pinnípedos se observa un aumento de los ácidos grasos circulantes, un incremento en la tasa de lipólisis y la oxidación de ácidos grasos, así como una reducción de insulina, de la oxidación de glucosa y catabolismo proteico. Esto en conjunto provoca hiperglicemia en mamíferos marinos que están pasando por un proceso de ayuno (Venn-Watson *et al.*, 2011; Houser *et al.*, 2012; Houser *et al.*, 2021; Crocker *et al.*, 2014). Además, la disminución en el catabolismo proteico les da una mayor capacidad para “ahorrar” proteínas (Houser *et al.*, 2013) que forman parte de sus músculos y que permiten el funcionamiento de órganos vitales. No obstante, en las etapas avanzadas, cuando el ayuno es muy prolongado y las reservas de grasa se han agotado, las proteínas comienzan a utilizarse para la obtención de energía (Le Maho *et al.*, 1988). El estrés también puede provocar un incremento de la glucosa en plasma, donde las hormonas producidas (cortisol, hormona del crecimiento, entre otras) incrementan la resistencia a insulina y la gluconeogénesis (Kuo *et al.*, 2015). Si la exposición a glucocorticoides es prolongada (crónica) puede generar hiperglucemia y resistencia a la insulina (Andrews y Walker, 1999).

Tomando esto en cuenta, en este capítulo se buscó investigar cual es el efecto de las anomalías climáticas en la glucosa y condición corporal de las crías de lobo marino de California, así como la relación que existe entre la cantidad de glucosa y la condición corporal de los individuos.

1.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. La concentración sanguínea de glucosa predice la condición corporal en neonatos de *Z. californianus*.
2. El aumento en las anomalías de la temperatura superficial del mar provoca una disminución en la concentración sanguínea de glucosa.
3. El aumento en las anomalías en la temperatura superficial del mar disminuye la condición corporal.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar si la condición corporal de las crías de *Zalophus californianus* predice la concentración sanguínea de glucosa.
2. Investigar si las anomalías en la temperatura superficial del mar modifican la cantidad de glucosa en las crías de *Zalophus californianus*.
3. Investigar la relación que existe entre las anomalías en la temperatura superficial del mar y la condición corporal de neonatos de lobo marino de California.

1.4 METODOLOGÍA

1.4.1 Condición corporal

Para determinar la condición corporal, se utilizaron los datos de longitud total (cm) y masa (kg) de 614 crías, obtenidos mediante muestreos realizados entre 2012-2020, en las 13 colonias del Golfo de California y el Archipiélago San Benito. Se utilizó el índice de Masa Escalado (Peig y Green, 2009), que fue propuesto como una alternativa a los métodos clásicos para el cálculo de la condición corporal en animales, y se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\hat{M}_i = M_i \left[\frac{L_0}{L_i} \right]^{b_{SMA}}$$

Donde,

M_i representa el valor de la masa de cada individuo

L_i representa el valor de la longitud total de cada individuo

L₀ representa el promedio de la longitud de la población

b_{SMA} representa el valor de pendiente obtenido mediante la regresión del eje mayor estandarizado (SMA)

Para obtener el exponente *b_{SMA}*, fue necesario transformar todos los valores de longitud total y masa a su logaritmo natural, y llevar a cabo una regresión utilizando el paquete estadístico “lmodel2” (Legendre, 2014), mediante el programa estadístico R studio 1.3.959 (R Core Team, 2020).

1.4.2. Toma de muestras

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena glútea caudal, utilizando una aguja de calibre 18 y tubos de vacío sin anticoagulante (Vacutainer, BD Biosciences, EE. UU.). Se centrifugaron a 4000 rpm durante 15 minutos para la obtención del suero. Este se mantuvo en congelación a -80°C hasta el momento de su análisis. Todos los estudios se llevaron a cabo bajo los permisos emitidos por la Dirección General de Vida Silvestre (DGVS) de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

1.4.3. Cuantificación de glucosa en suero

La toma de muestras sanguíneas para determinar la glucosa en sangre puede realizarse con facilidad en animales domésticos y en cautiverio. En muchas clínicas o laboratorios se cuenta con analizadores bioquímicos, pero los análisis en este tipo de equipo requieren una mayor cantidad de muestra, presupuesto y tiempo (Suchowersky et al., 2021). Sumado a esto, se necesita siempre de una persona especializada en el procedimiento y las herramientas a utilizar.

El espectrómetro es un analizador bioquímico que determina la concentración de glucosa a partir de muestras de suero o plasma. Su funcionamiento requiere la catalización de la glucosa a ácido glucónico, formando peróxido de hidrógeno. La intensidad del color que se genera, es proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra (Trinder, 1969; Spinreact S.A.U. Ctra Santa Coloma 7, E-17176 Sant Esteve de Bas, Spain).

Las concentraciones de glucosa son mayores en el plasma que en la sangre entera, dado que su contenido de agua es mayor (y con menor variación) en plasma que en eritrocitos. Además la glucosa en sangre depende del hematocrito, mientras que el plasma es independiente de éste. Por esta razón, se sugiere reportar la glucosa en plasma, ya que proporciona un valor más acertado que refleja la actividad de la glucosa (D’Orazio *et al.*, 2006). La diferencia entre la glucosa en suero y plasma es muy baja, siendo menor en suero solo por un 1.15% (Frank *et al.*, 2012). En muestras de sangre en perros, se ha determinado que existe una excelente correlación entre la glucosa de suero y plasma medida con el glucómetro y un analizador bioquímico, incluso mayor que en muestras obtenidas a partir de sangre entera (Tauk *et al.*, 2015).

El glucómetro es un método de medición de la concentración sanguínea de glucosa, a partir de la cual se puede obtener un resultado en segundos. No requiere de una persona especializada, tiene un costo bajo y es fácil de utilizar. Es importante tener

en cuenta que este método no tiene la misma precisión que un analizador bioquímico, ya que algunos parámetros pueden influir en las mediciones, dependiendo de la técnica de medición del glucómetro. *OneTouch Ultra* utilizado en este trabajo, es un aparato fotométrico que utiliza la glucosa oxidasa para catalizar la conversión de glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. La concentración de glucosa en la muestra, será proporcional a la cantidad de peróxido de hidrógeno y provocará un cambio de color en la banda de medición (Rebel *et al.*, 2012; Demitri y Zoubir, 2017). Las mediciones utilizando este mecanismo pueden verse influenciadas por la concentración de oxígeno en sangre, sin embargo, se cree que este efecto es mínimo (Tang *et al.*, 2000).

Para medir la glucosa en el suero, en este caso se utilizaron muestras de suero congelado de 461 crías nacidas entre 2012-2020, en las 13 colonias reproductivas del Golfo de California y San Benito. Utilizando una micropipeta, se tomaron 5 ul de suero previamente descongelado y se colocó una gota en papel PARAFILM limpio.

Para la medición, se utilizó el glucómetro ONETOUCH Ultra mini y las tiras reactivas de la misma marca, código 25. La tira se insertó con cuidado en el glucómetro, tomándola por los lados y evitando tocar las zonas de medición. El extremo de la tira se colocó dentro de la gota, permitiendo que el suero subiera por capilaridad. Se esperó 5 segundos, y se registró el resultado mostrado en la pantalla del dispositivo.

1.4.4. Análisis estadísticos

Los análisis se llevaron a cabo utilizando el programa estadístico R studio 1.3.959 (R Core Team, 2022), utilizando todos los datos obtenidos ($n=+600$). La normalidad de las variables de respuesta se comprobó utilizando el test de Shapiro y analizando los datos gráficamente. Aquellas variables que no presentaron una distribución normal, fueron analizadas mediante gráficos de Cullen y Frey para determinar su distribución. Se construyeron modelos lineales generalizados (GLM) para examinar:

1. La relación que existe entre la glucosa y la condición corporal de las crías
2. El efecto del lugar/año de nacimiento y de las anomalías en temperatura superficial del mar, sobre la condición corporal y la glucosa de las crías.

Se llevaron a cabo pruebas *post-hoc* para determinar las diferencias en las colonias a través de los años y entre regiones. Para analizar la relación entre las mediciones de glucosa en espectrofotómetro y glucómetro, se llevó a cabo una regresión lineal simple. Para esto, únicamente se usaron los valores de glucosa que se habían cuantificado anteriormente en el espectrofotómetro (Banuet-Martínez, 2017) y las mediciones que se obtuvieron mediante el glucómetro para este trabajo.

1.5 RESULTADOS

En el cuadro 5 y en la figura 3 se muestran las anomalías en la temperatura superficial del mar durante los periodos del embarazo de la hembra a través de los años. Durante todos los años se encontraron anomalías, pero se observó un incremento de éstas entre 2013-2016. A pesar de haber disminuído un poco a partir de 2017, las anomalías climáticas persistieron a lo largo de todos los años estudiados.

Cuadro 5. Promedio de las anomalías en la TSM (°C) de acuerdo al periodo de embarazo y año de nacimiento de las crías.

Año	Periodo					Promedio por año
	Septiembre Noviembre	Enero Febrero	Abril Mayo	Junio Julio		
2012	0.32 °C	0.79 °C	0.23 °C	0.61 °C		0.49 °C
2013	1.13 °C	-0.41 °C	0.86 °C	2.68 °C		1.07 °C
2014	0.11 °C	0.09 °C	1.50 °C	2.08 °C		0.95 °C
2015	1.48 °C	1.14 °C	1.51 °C	1.75 °C		1.47 °C
2016	2.04 °C	1.57 °C	1.55 °C	1.76 °C		1.73 °C
2017	0.25 °C	-0.03 °C	0.48 °C	1.18 °C		0.47 °C
2018	0.92 °C	1.13 °C	-0.12 °C	0.51 °C		0.61 °C
2019	0.96 °C	0.36 °C	0.43 °C	0.35 °C		0.52 °C
2020	0.14 °C	0.27 °C	1.16 °C	1.79 °C		0.84 °C

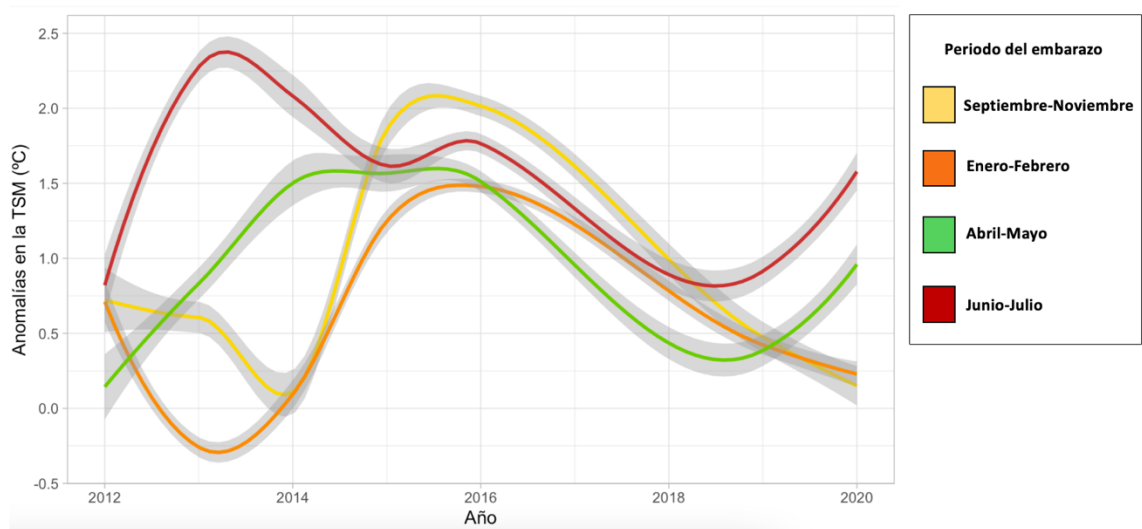


Fig. 3. Anomalías en la temperatura superficial del mar entre 2012-2020 en los periodos del embarazo.

El modelo que se realizó permitió determinar la validez del uso del glucómetro para cuantificar los valores de glucosa en sangre. Se observó una relación lineal entre las mediciones de glucosa, utilizando el espectrofotómetro y glucómetro ($F_{1,70} = 385$, $p = <2.2 \cdot 10^{-16}$, $R^2 = 0.844$; Fig. 4).

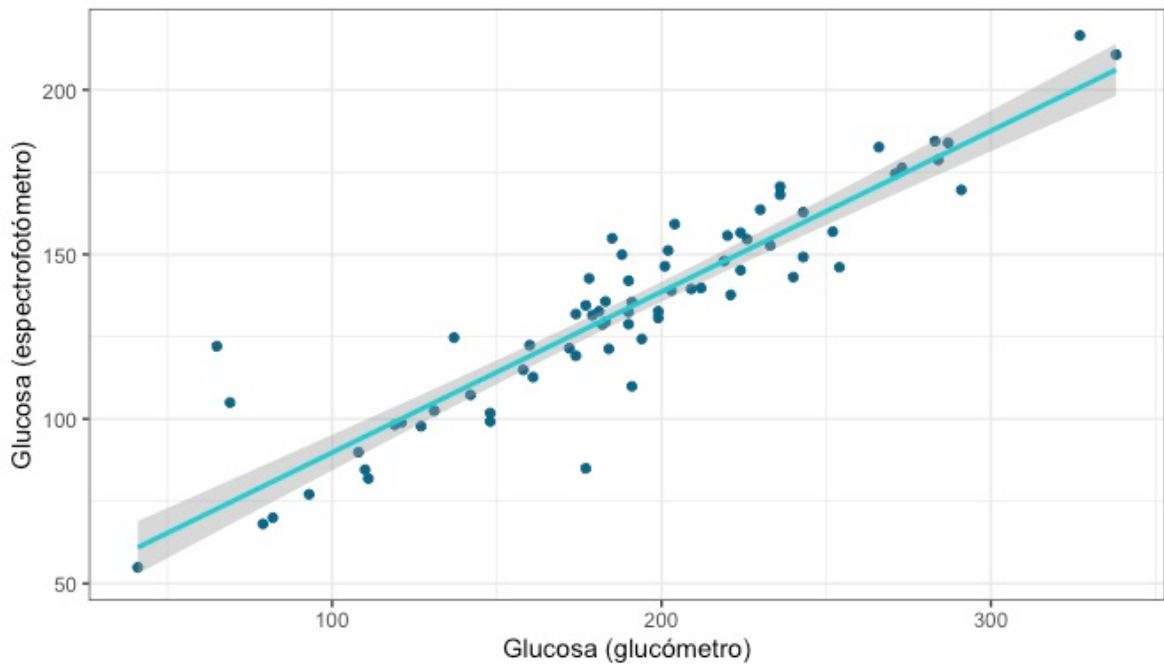


Fig. 4. Regresión lineal entre las mediciones de glucosa de sangre de crías de *Z. californianus* en espectrofotómetro y glucómetro.

Si se desea convertir una medición de glucosa cuantificada con glucómetro a una medición semejante a la que se obtendría si se utilizara el espectrofotómetro, los valores de la pendiente y la ordenada al origen de esta regresión pueden sustituirse en la ecuación de la recta:

$$y = m x + b$$

Donde,

y representa el valor que se desea obtener (glucosa en espectrofotómetro)

m representa la medición de glucosa real (cuantificada en glucómetro)

x representa a la pendiente

b representa al intercepto

Si es necesario convertir los valores obtenidos en el espectrofotómetro a valores semejantes a los del glucómetro, únicamente debe despejarse la ecuación de la recta y sustituir los valores del intercepto y la pendiente (Cuadro 6).

Cuadro 6. Valores de la pendiente e intercepto, obtenidos mediante la regresión lineal. Estos pueden sustituirse en la ecuación de la recta para convertir las mediciones de glucosa.

Variables	Valor
Intercepto u ordenada al origen	40.90920
Pendiente	0.48875

No se encontró una relación significativa entre la glucosa y la condición corporal ($F_{1,439} = 0.616$, $p = 0.433$, $R^2 = -0.0008735$). De esta manera, la condición corporal de las crías no predice la concentración sanguínea de glucosa. El aumento en la anomalía de la TSM a mediados y finales del embarazo provoca la disminución en la glucosa sanguínea de las crías (Cuadro 7, modelo 1, 2.1 y 2.2). En el caso de la temporada de muestreo, se observa que al aumentar la anomalía en la TSM incrementa la glucosa (Cuadro 7, modelo 3).

Cuadro 7. Modelo lineal generalizado construido para explorar la relación entre las anomalías en la TSM y la concentración sanguínea de glucosa.

Modelo 1. Glucosa ~ Región + Año + Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	F	P
Región	NA	13	4.9340	4.103 ⁻⁰⁸ ***
Año	NA	8	3.7899	0.0002574 ***
Anomalía (Mediados del embarazo)	-79.868	1	8.8617	0.0030737 **
Modelo 2.1. Glucosa ~ Región + Año + Anomalía(Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	F	P
Región	NA	4	7.1262	1.438 ⁻⁰⁵ ***
Año	NA	8	4.3618	4.374 ⁻⁰⁵ ***
Anomalía (Final del embarazo)	-20.021	1	4.9083	0.02723 *
Modelo 2.2. Glucosa ~ Colonia + Año + Anomalía(Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	F	P
Colonia	NA	13	5.0875	1.982 ⁻⁰⁸ ***
Año	+	8	3.9078	0.0001794 ***
Anomalía (Final)	-96.42	1	22.7618	2.502 ⁻⁰⁶ ***

Modelo 3. Glucosa ~ Colonia + Año + Anomalía(Junio-Julio)

Término	Estimado	Df	F	P
Colonia	NA	13	5.1065	1.811 ⁻⁰⁸ ***
Año	NA	8	3.9224	0.0001715 ***
Anomalía (Temporada de muestreo)	243.07	1	24.4881	1.068 ⁻⁰⁶ ***

NA= No aplica dado que son variables categóricas.

La glucosa sanguínea en el sur presentó los valores más bajos de glucosa y fue significativamente diferente a lo que se obtuvo en Ángel de la Guarda, zona Centro y zona Norte. No se encontraron diferencias entre las demás regiones (Cuadro 8, Fig. 5).

Cuadro 8. Media y desviación estándar de la glucosa para las regiones del Golfo de California y el Archipiélago San Benito. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.

Región	Media	SD
Norte	206 (c)	53.8
Ángel de la Guarda	216 (a)	48.1
Centro	215 (b)	65.6
Sur	193 (a, b, c)	62.6
San Benito (Pacífico)	168	73.7

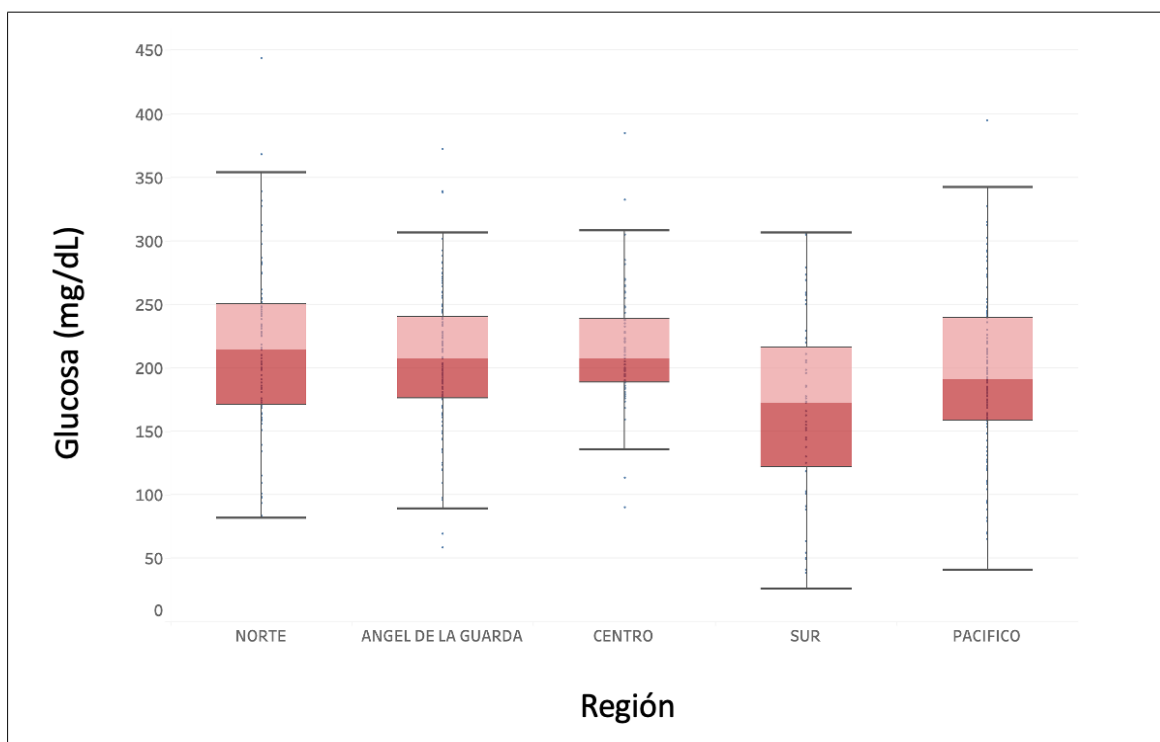


Fig. 5. Comparación de la glucosa sanguínea de las crías de *Z. californianus* entre regiones.

En el caso de los años, únicamente se encontraron diferencias significativas a través de los años en Islotes (2016-2020) y Rocas Consag (2013-2016) (Cuadro 9, Fig.6). Islotes (2016) fue la colonia con la menor media de glucosa.

Cuadro 9. Media y desviación estándar de la glucosa para las colonias reproductivas estudiadas. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.

Colonia/Año	Media	SD	Colonia/Año	Media	SD
BE14	174	70.9	MA16	191	48.7
BE15	172	60.7	PA13	177	33.6
BE17	201	75.1	PA16	222	33.1
BE18	197	39.4	RA16	188	48.9
BE19	220	58.4	RC13	145 (b)	60.6
CA13	223	57.1	RC16	265 (b)	66.8
CA16	203	52.5	RC20	179	24.4
CA20	278	60.9	SE16	211	54
CO13	146	41.9	SE20	212	53.2
CO16	216	39.8	SJ16	241	59.5
FSI16	216	56	SJ20	249	44
GR12	208	52.4	SPM16	220	39.8
GR13	201	61.2	SPN20	231	39.4
GR16	200	46.9	SPN16	228	53.9
IS14	145	78			
IS16	84.5 (a)	39.8			
IS20	194 (a)	43.9			

BE=Archipiélago de San Benito, CA=Cantiles, CO=Coloradito, FSI=Farallón San Ignacio, GR=Granito, IS=Islotes, MA=Machos, PA=Partido, RA=Rasito, RC=Rocas Consag, SE=San Esteban, SJ=San Jorge, SPM=San Pedro Martir, SPN=San Pedro Nolasco.

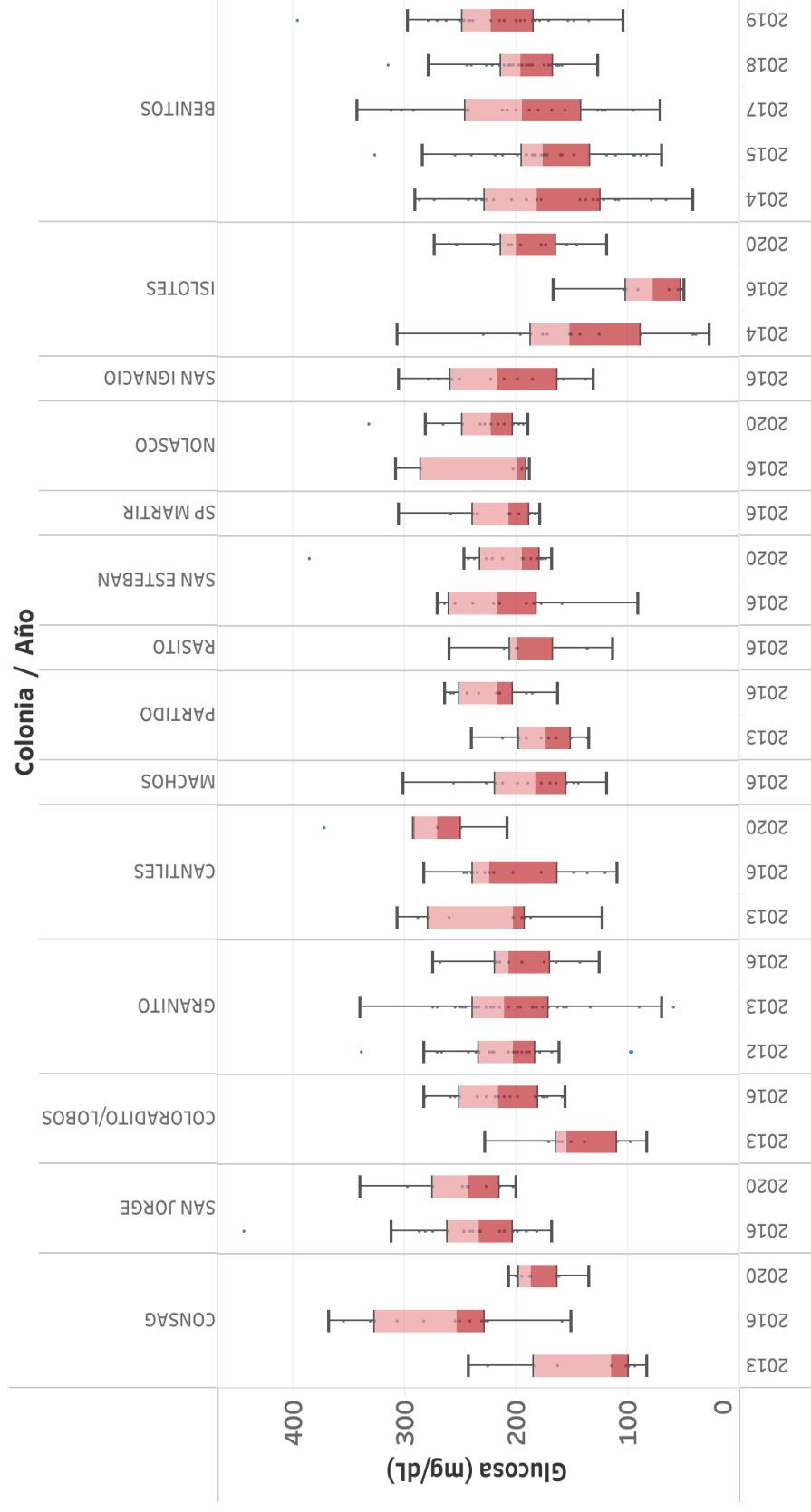


Fig. 6. Comparación de la glucosa sanguínea de las crías de *Z. californianus* entre las colonias reproductivas a través de los años.

El año de nacimiento, la región, colonia reproductiva y las anomalías en la TSM a inicios (Cuadro 10; modelo 1 y 2), mediados (Cuadro 10; modelo 3 y 4), finales del embarazo (Cuadro 10; modelo 5 y 6) y durante el periodo de muestreo (Cuadro 10; modelo 7 y 8) explican la condición corporal. En todos los casos se observó que cuando aumenta la anomalía en la TSM disminuye la condición corporal de los individuos.

Cuadro 10. Modelo lineal generalizado construido para explorar la relación entre las anomalías en la TSM y la condición corporal de las crías.

Modelo 1. Condición corporal ~ Región + Año + Anomalía (Septiembre- Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Región	NA	4	25.072	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	16.810	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Inicio)	-0.24691	1	15.966	8.686 ⁻⁰⁹ ***
Modelo 2. Condición corporal ~ Colonia + Año + Anomalía(Septiembre- Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Colonia	NA	13	23.551	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	1	23.306	0.001355 **
Anomalía (Inicio)	-0.408668	8	14.743	< 2.2 ⁻¹⁶ ***

Modelo 3. Condición corporal ~ Región + Año + Anomalía(Enero-Febrero)

Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Región	NA	4	25.072	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	16.810	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Mediados)	-0.27258	1	16.365	3.668 ⁻⁰⁵ ***

Modelo 4. Condición corporal ~ Colonia + Año + Anomalía(Enero-Febrero)

Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Colonia	NA	13	23.551	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	15.836	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Mediados)	-0.48730	1	15.373	1.544 ⁻⁰⁵ ***

Modelo 5. Condición corporal ~ Región + Año + Anomalía(Abril-Mayo)

Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Región	NA	4	25.072	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	16.810	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Final)	-0.15679	1	16.445	0.0001921 ***

Modelo 6. Condición corporal ~ Colonia + Año + Anomalía(Abril-Mayo)

Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Colonia	NA	13	23.551	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	15.836	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Final)	- 0.2964112	1	15.545	0.0006584 ***

Modelo 7. Condición corporal ~ Región + Año + Anomalía(Junio-Julio)

Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Región	NA	4	25.072	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	16.810	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Periodo de muestreo)	-0.23270	1	16.427	0.0001315 ***

Modelo 8. Condición corporal ~ Colonia + Año + Anomalía(Junio-Julio)

Término	Estimado	Df	Resid.Dev	P
Colonia	NA	13	23.551	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Año	NA	8	15.836	< 2.2 ⁻¹⁶ ***
Anomalía (Periodo de muestreo)	-0.93887	1	14.873	2.584 ⁻¹⁰ ***

NA= no aplica dado que son variables categóricas.

El centro, sur y Pacífico se comportaron como una misma unidad ya que presentaron los valores más bajos de condición corporal y no hubo diferencias significativas entre ellos. Norte y Ángel de la Guarda presentaron los valores más altos de condición corporal y no se encontraron diferencias entre ellos (Tukey HSD; $p > 0.05$ en todos los casos; fig. 7). En el cuadro 11 se muestran los valores promedio y desviación estándar de la condición corporal para las regiones del Golfo de California y el Archipiélago San Benito.

Las medias más altas de condición corporal (Índice de Masa Escalado) fueron encontradas en Cantiles, Coloradito y Partido durante 2013, además, este año también fue el mejor para Granito y Partido (Cuadro 12). A partir de los siguientes años, la condición corporal disminuyó en todas estas colonias. En el Archipiélago de San Benito, 2014 fue el año con la mayor condición corporal y disminuyó en los siguientes años. No obstante, para 2019 la condición corporal incrementó nuevamente, por lo que no hubo diferencias entre el primer y último año de muestreo. En Islotes, 2014 mostró valores bajos de condición corporal, se recuperó para 2016 y disminuyó nuevamente en 2020. Las medias más bajas de condición corporal se encontraron en el Archipiélago de San Benito (2015, 2017) e Islotes (2020) (Fig.8).

Cuadro 11. Media y desviación estándar de condición corporal para las regiones del Golfo de California y el Archipiélago San Benito. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.

Región	Media	SD
Norte	12.9 (d, e, f)	2.11
Ángel de la Guarda	12.7 (a, b, c)	1.36
Centro	11.5 (a, d)	1.89
Sur	11.4 (c, f)	1.43
Benitos	11.4 (b, e)	1.49

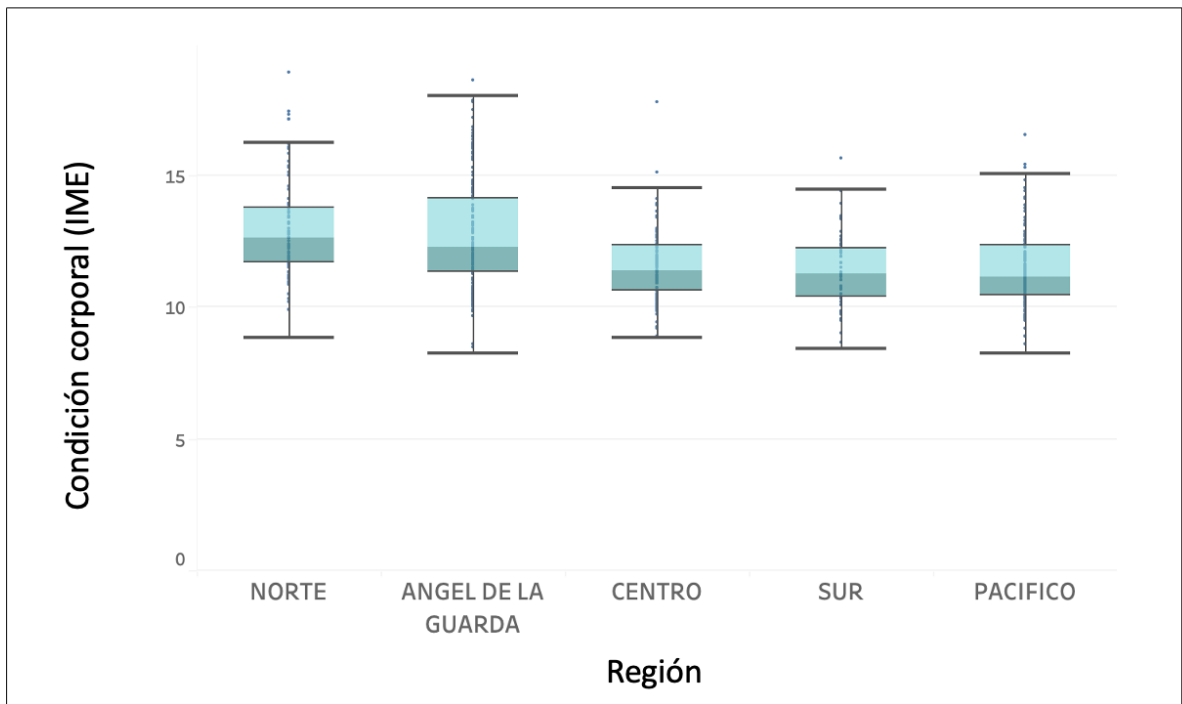


Fig. 7. Comparación de la condición corporal de las crías de *Z. californianus* entre regiones.

Cuadro 12. Media y desviación estándar de la condición corporal para las colonias reproductivas estudiadas. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas.

Colonia/Año	Media	SD	Colonia/Año	Media	SD
BE14	12.9 (a, b, c)	1.52	MA15	11.1	1.8
BE15	10.6 (a, d)	0.779	MA16	12.4	1.5
BE17	10.6 (b)	1.05	PA13	16.1 (m, n)	1.3
BE18	11.2 (c)	1.07	PA15	12.9 (m)	2.41
BE19	11.8 (d)	1.19	PA16	12.1 (n)	1.37
CA13	16.4 (e, f, g)	0.597	RA15	12.4	1.28
CA15	11.8 (e)	1.48	RA16	11.7	2.4
CA16	11.9 (f)	0.868	RC13	14.5 (o, p)	2.06
CA20	11.5 (g)	1.05	RC16	12.3 (o)	1.51
CO13	16.3 (h)	1.21	RC20	11.8 (p)	0.923
CO16	12.6 (h)	0.956	SE16	11.1	0.904
FSI16	11.4	0.831	SE20	11.1	1.2
GR12	10.9 (i)	0.845	SJ16	12.4	1.29
GR13	13.9 (i, j, k)	1.92	SJ20	11.3	0.898
GR15	11.7 (j)	1.56	SMP16	11.9	1.14
GR16	12.1 (k)	1.01	SPN16	11.5	1.75
IS14	11.2	1.06	SPN20	11.5	0.782
IS16	13.9 (l)	0.982			
IS20	10.1 (l)	0.943			

BE=Archipiélago de San Benito, CA=Cantiles, CO=Coloradito, FSI=Farallón San Ignacio, GR=Granito, IS=Islotes, MA=Machos, PA=Partido, RA=Rasito, RC=Rocas Consag, SE=San Esteban, SJ=San Jorge, SPM=San Pedro Martir, SPN=San Pedro Nolasco.

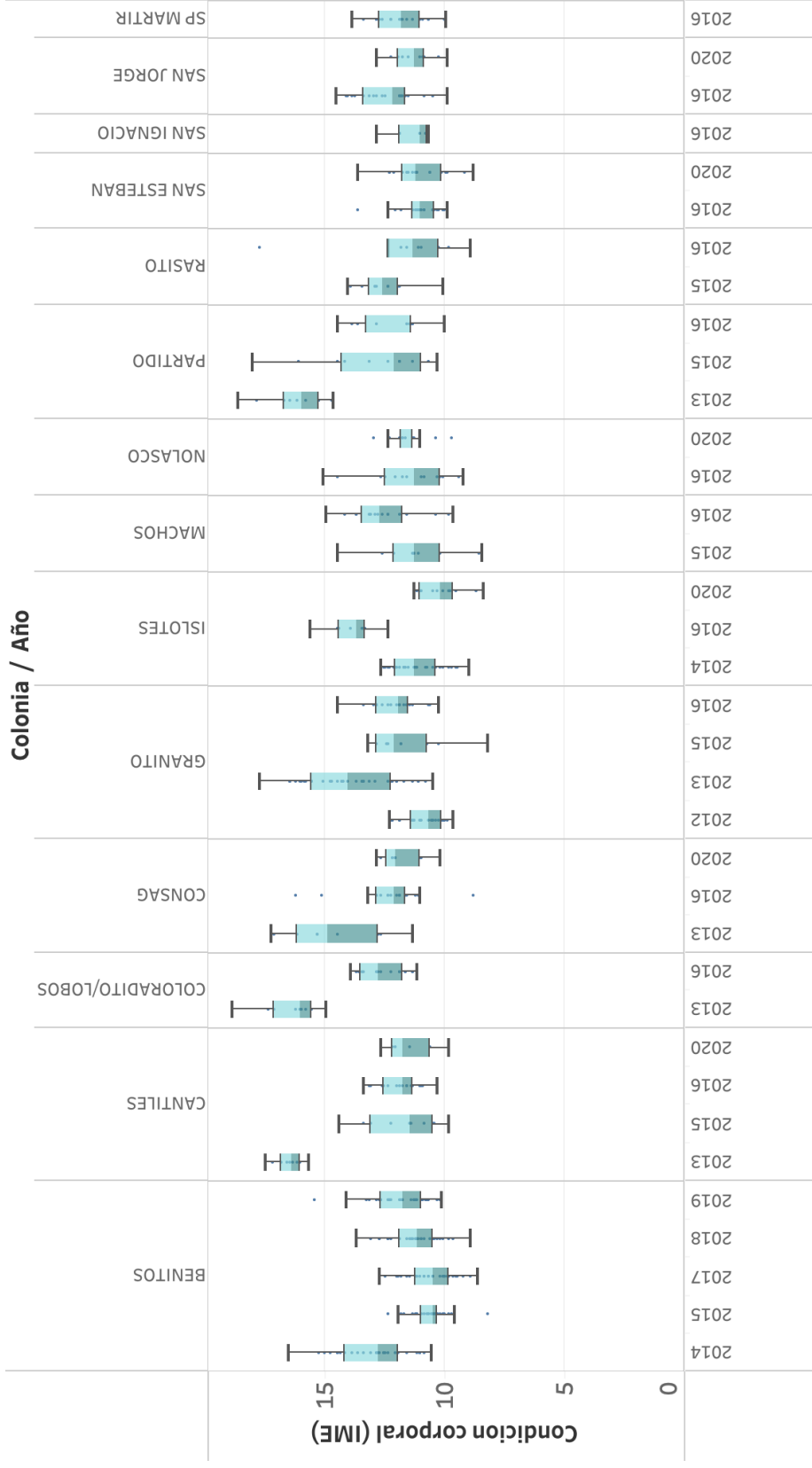


Fig. 8. Comparación de la glucosa sanguínea de las crías de *Z. californianus* entre las colonias reproductivas a través de los años.

1.6 DISCUSIÓN

En este capítulo se investigó el efecto del aumento en las anomalías en la TSM en la concentración sanguínea de glucosa y la condición corporal. Para esto fue necesario obtener los valores de glucosa a partir de muestras de suero, por lo que el primer objetivo de esta tesis fue analizar la relación entre las mediciones de glucosa obtenidas mediante dos métodos distintos: el glucómetro y el espectrofotómetro. Se esperaba que el glucómetro tuviera una alta exactitud respecto a los valores obtenidos en el espectrofotómetro, a pesar de ser un instrumento con menor precisión.

Se obtuvo una relación significativa entre los valores de glucosa obtenidos mediante ambos métodos. Esto indica que las muestras de suero obtenidas en los muestreos se pueden utilizar para medir la glucosa en el laboratorio, así como para múltiples fines. Generalmente la glucosa se mide en el glucómetro a partir de una muestra de sangre tomada en el momento, no obstante, en animales de vida libre esto implica aumentar el tiempo de manejo y estrés en el animal, dificultando aún más el trabajo en campo. Tauk y colaboradores (2015) encontraron que la glucosa obtenida mediante glucómetro con muestras de suero/plasma, estuvo altamente correlacionada con la glucosa obtenida mediante un analizador bioquímico. Este es un antecedente importante, ya que demuestra que obtener la glucosa a partir de suero y plasma es un método eficaz, y que no necesariamente debe realizarse en el momento.

Bennet y colaboradores (2017) compararon la cantidad de glucosa en hembras adultas y crías de focas grises (*Halichoerus grypus*) obtenida mediante glucómetro (sangre) y estudios en laboratorio (plasma). Dado que no encontraron una correlación entre ambos métodos, no consideran al glucómetro una alternativa eficaz. No obstante, se ha demostrado que la cantidad de glucosa en sangre es distinta al plasma debido a que la glucosa en sangre depende del hematocrito

(D'Orazio *et al.*, 2006). Por esta razón, no es conveniente comparar componentes sanguíneos tan distintos. En este trabajo únicamente se utilizaron muestras de suero y se usó un glucómetro cuya técnica se basa en las mismas bases de fotometría que el espectrofotómetro (Rebel *et al.*, 2012; Demitri y Zoubir, 2017; Trinder, 1969). Esto pudo haber influenciado el resultado de la regresión, ya que si se hubiera utilizado un glucómetro que usara una técnica de medición distinta, los resultados no habrían sido los mismos.

1.6.1. Concentración sanguínea de glucosa

El primer objetivo de este capítulo fue investigar la relación entre la condición corporal y la concentración sanguínea de glucosa. Banuet-Martínez y colaboradores (2017) encontraron una relación entre la glucosa y la condición corporal de las crías nacidas durante años de alta temperatura de la superficie corporal del mar, pero en los resultados de este capítulo no hubo tal relación entre ambos parámetros. Esto puede deberse a que anteriormente se compararon los datos de glucosa y condición corporal utilizando únicamente a las crías de Granito en el Golfo de California (2012) y del Archipiélago San Benito en el Pacífico Mexicano (2014 y 2015). Para este capítulo se utilizaron los mismos datos y se observó que tanto la glucosa como la condición corporal fueron más altos en Granito (2012) respecto a San Benito (2014 y 2015), corroborando los resultados de Banuet-Martínez. No obstante, al agregar una mayor cantidad de datos pertenecientes a más individuos, años, colonias reproductivas y regiones, ya no fue posible observar la relación entre ambos parámetros, dado que probablemente aumentó la variabilidad en los parámetros biológicos de las crías.

Otra razón por la que no observamos la relación entre la glucosa y la condición corporal, podría ser la alta complejidad en el metabolismo de la glucosa, la cual puede verse afectada por el tiempo en que se realizó la última comida, por los ayunos e incluso estrés (Houser *et al.*, 2013; Houser *et al.*, 2021; Champagne *et al.*,

2005; Champagne *et al.*, 2006; Kuo *et al.*, 2015; Andrews y Walker, 1999; Rea *et al.*, 2000).

La segunda predicción de este capítulo fue que la concentración sanguínea de glucosa disminuiría con el aumento de las anomalías en la TSM, no obstante, los resultados obtenidos variaron dependiendo de la época de embarazo. A mediados y finales del embarazo, la disminución de la glucosa está asociada al aumento en la temperatura superficial del mar. Esto podría deberse a la capacidad de los fetos para adaptar su metabolismo a cambios agudos o crónicos, dependiendo del suministro de glucosa por parte de la madre, ya que la glucemia depende completamente de la transferencia placentaria (Hay, 1991; Hay, 2006).

El aporte calórico del alimento varía en cuanto a su composición de grasas, proteínas y carbohidratos, ya que cada macronutriente aporta diferente cantidad de energía (FAO, 2003); no obstante, las presas que consume esta especie no son una fuente de carbohidratos, por lo que la madre debe generar glucosa mediante gluconeogénesis (Eisert, 2011). De esta manera, si las presas que consume son de menor contenido energético, entonces deberá aumentar su esfuerzo alimenticio (Rosen y Trites, 2000). Por otro lado, si se presentan temporadas donde el alimento es insuficiente y las únicas presas disponibles no brindan suficiente energía, sus reservas de grasa y su masa se verán disminuidas, afectando su capacidad para generar glucosa (Scholl *et al.*, 2001). Estas podrían ser algunas de las razones por las que se observa una disminución de la glucosa sérica de las madres durante el embarazo, donde la disminución en la producción de glucosa por parte de la madre tendría un efecto directo en la glucosa que recibe el feto en desarrollo.

En crías recién nacidas (es decir, durante los meses de junio-julio), se vio que el aumento en la TSM se asoció al incremento en la concentración sanguínea de glucosa. Se ha encontrado que en ratas embarazadas que han tenido una dieta baja en proteínas, las crías nacen con una mayor cantidad de hepatocitos periportales, lo que aumenta la concentración sanguínea de glucosa y disminuye su capacidad

para degradarla (Desai *et al.*, 1995). Por lo tanto, el aumento en la glucosa sérica que se observó durante el desarrollo temprano de las crías podría afectar a largo plazo el metabolismo de la glucosa.

Al momento del nacimiento, las crías dependen completamente de sí mismas y de su capacidad para generar glucosa a partir de la gluconeogénesis (Warnes *et al.*, 1977; Eisert *et al.*, 2017). La energía y glucosa serán obtenidas a partir de lípidos y proteínas presentes en la leche materna, pero en aquellos casos donde la madre pasa muchos días buscando alimento, la cría comienza a ayunar (Rea *et al.*, 2000) e incrementa la glucosa en sangre (Houser *et al.*, 2013; Houser *et al.*, 2021; Champagne *et al.*, 2005; Champagne *et al.*, 2006). Por esta razón, el aumento de la glucosa y su relación con el incremento de la TSM durante junio-julio, también podrían ser indicativos de un aumento en los periodos de ayuno por parte de las crías. De la misma manera, el aumento en la producción de cortisol y hormona del crecimiento debido al estrés crónico pueden promover el aumento en la glucosa (Kuo *et al.*, 2015; Andrews y Walker, 1999).

En crías de lobo marino de Steller que se encuentran en ayuno, se ha observado que comienzan a degradar sus reservas de proteínas rápidamente, lo que indica que las reservas de grasa son escasas a esa corta edad y se agotan fácilmente (Rea *et al.*, 2000). A pesar de que en algunos mamíferos marinos los periodos de ayuno son parte de la historia de vida (Rea, 1995; Champagne *et al.*, 2012), en las crías neonatas de *Z. californianus* no se conoce la respuesta ante ayunos cortos y prolongados. Por esta razón se necesita mayor investigación respecto a la cinética de la glucosa en esta especie, ya que si fácilmente agotan sus reservas de grasas y proteínas como se observó en el lobo marino de Steller, se esperaría que en algún momento la glucosa sanguínea disminuyera drásticamente.

Es importante tomar en cuenta que los modelos lineales generalizados muestran la relación que se observa entre los parámetros y las anomalías en la TSM, no obstante, en este capítulo se compararon las concentraciones sanguíneas de

glucosa que se obtuvieron en cada región, sin tomar en cuenta otro factor. La glucosa también puede incrementar si las crías fueron recientemente alimentadas (Rea *et al.*, 2000), por ejemplo, Seguel y colaboradores (2018) encontraron que las crías de lobo marino sudamericano con mayor cuidado materno tuvieron concentraciones sanguíneas de glucosa más elevadas, por lo que probablemente recibieron una mayor cantidad de leche. Y sí existe la posibilidad de que se den variaciones geográficas en la cantidad de leche que reciben las crías ya que se ha determinado que la lactancia en el Golfo de California tiene diferente duración dependiendo de la región, siendo más corta en el sur y más larga en el centro y norte (Elorriaga-Verplancken, 2009).

Esto es lo que se podría estar reflejando en la fig. 5, donde se muestra la glucosa de acuerdo a la región a la que pertenecen las crías. El sur del Golfo de California así como el Archipiélago San Benito tuvieron las menores concentraciones de glucosa, respecto a las otras regiones. Sumado a esto, Islotes fue la colonia reproductiva con las menores concentraciones de glucosa en 2016, siendo el año con la mayor anomalía en la TSM encontrada en este trabajo. El sur y el Archipiélago San Benito tienen una gran influencia del océano Pacífico y la corriente de California (Álvarez-Borrego y Schwartzlose 1979, Torres-Orozco 1993; Durazo y Baumgartner, 2002), además de estar en contacto directo con la zona mínima de oxígeno que se encuentra al sur del Golfo de California (Sánchez-Pérez *et al.*, 2021; Aurióles-Gamboa *et al.*, 2017). Esto en conjunto podría modificar la cantidad de alimento disponible para las madres, disminuyendo el tiempo que pasan con las crías y la cantidad de glucosa que pueden generar a partir de la leche.

La región Centro presenta valores intermedios de temperatura superficial y productividad primaria, aunque dichas características pueden variar en verano o invierno (Escalante-Almazán, 2013; Roden 1964; Escalante-Almazán, 2013), razón por la cual podrían diferir sus concentraciones de glucosa respecto al Norte y Ángel de la Guarda. Estas últimas dos regiones mantienen condiciones oceanográficas que pueden neutralizar los efectos del calentamiento en el Pacífico y la Corriente de

California, aumentando la disponibilidad de presas para las madres (Santa-María-Del-Angel *et al.*, 1994; Maluf 1983; Marinone, 2003; Álvarez-Borrego y Schwartzlose 1979; Escalante-Almazán, 2013) y aumentando la disponibilidad de leche para las crías en estas regiones.

1.6.2. Condición corporal o Índice de Masa Escalado

La tercera predicción de este capítulo fue que la condición corporal de las crías disminuiría respecto al aumento en la TSM. Esto se cumplió, ya que la condición corporal disminuyó en relación con el aumento de la TSM a inicios, mediados, finales del embarazo y en la época en que se realizaron los muestreos. Esto concuerda con los hallazgos de Banuet-Martínez y colaboradores (2017), quienes observaron que la condición corporal disminuyó en las crías que nacieron en 2014 y 2015 (años con anomalías climáticas), respecto a 2012 que se considera un año normal en cuanto a la TSM. Como se ha observado en el lobo marino de Steller, alimentarse de presas con menor contenido energético disminuye su masa corporal (Rosen y Tristes, 2002). Esto podría afectar a las madres desde el embarazo, hasta el nacimiento y la lactancia, ya que: 1) se disminuye la energía disponible para la cría en el útero, 2) afecta el peso de la cría al nacer (Boyd y McCann, 1989) y 3) modifica la calidad de la leche disponible (Riet-Sapriza *et al.*, 2012).

El aumento en los periodos de ayuno en las crías, también podrían estar provocando una pérdida de peso constante, tal como se observó en las crías de lobo marino de Steller, las cuales perdieron 5.1% de su masa después de ayunar dos días (Rea *et al.*, 2000). Las crías de esta especie deben utilizar la mayor parte de su energía para realizar las actividades básicas, como movimiento y termorregulación; la energía restante será utilizada para su crecimiento (Oftedal *et al.*, 1987). Si las hembras proporcionan una cantidad adecuada de nutrientes, el neonato podrá aumentar su masa corporal y tolerar ayunos más prolongados (Arnould *et al.* 2001; Carlini *et al.* 2001; Noren *et al.* 2003, 2008; Rea y Costa, 1992). No obstante, si la hembra tarda más días en llevar alimento o la leche no es tan rica en grasas y

proteínas, la cría deberá utilizar aquellos recursos restantes para sobrevivir (Harcourt, 1992) y tendrá menor energía para crecer y depositar grasa en sus tejidos (Oftendal *et al.*, 1987).

Las colonias de *Z. californianus* del Pacífico Mexicano (San Benito), así como la región sur y centro del Golfo de California tuvieron los valores más bajos de condición corporal. Probablemente esto es un reflejo de su cercanía al océano Pacífico y de la variación en sus presas respecto a las otras regiones (Aurioles-Gamboa *et al.*, 2017; Aurioles-Gamboa y Camacho-Ríos, 2007). La corriente de California ha sido afectada por fenómenos de calentamiento de distinta severidad entre 2013 y 2019 (Bond *et al.*, 2015; Jacox *et al.*, 2016; Wells *et al.*, 2017; Thompson *et al.*, 2018; Thompson *et al.*, 2019; Amaya *et al.*, 2020). La zona mínima de oxígeno que se encuentra al sur del Golfo de California también es un factor que debe considerarse como un riesgo, ya que puede afectar drásticamente a los organismos que habitan en esta zona (Sánchez-Pérez *et al.*, 2021, Aurioles-Gamboa *et al.*, 2017). Si hay menos alimento o presas de menor valor nutricional, la hembra producirá leche de menor calidad; si la hembra debe desplazarse mayores distancias para alimentarse entonces la cría tendrá que pasar más tiempo sola. Esto aumenta sus necesidades de termorregulación y supervivencia, así como la pérdida de sus reservas propias como consecuencia de tener ayunos prolongados (Oftendal *et al.*, 1987; Rea *et al.*, 2000). Por el contrario, la región norte y Ángel de la Guarda mostraron la condición corporal más alta, por lo que posiblemente, la mayor productividad primaria y menores temperaturas superficiales de estas zonas (Santa-María-Del-Angel *et al.*, 1994; Maluf 1983; Marinone, 2003; Álvarez-Borrego y Schwartzlose 1979; Escalante-Almazán, 2013), podrían favorecer al alimento disponible y mejorar la capacidad de la cría para depositar grasa y aumentar su condición corporal.

Cabe mencionar que 2013 fue el año de estudio en el que las crías presentaron la mayor condición corporal en diversas colonias reproductivas. Precisamente, 2012 y

2013 fueron años en los que se capturaron altas cantidades de pelágicos menores (sardina, anchoveta y macarela) (Cuadro 1), lo que podría reflejar la alta disponibilidad de alimento para las hembras embarazadas durante 2012, cuyas crías nacieron en 2013 con una alta condición corporal. No obstante, el esfuerzo pesquero debería ser constante durante todos los años para poder hacer la comparación entre la producción pesquera y la abundancia de estas presas en el ecosistema.

En Cantiles, Coloradito, Partido, Granito y Rocas Consag (colonias que pertenecen al Norte y Ángel de la Guarda) se observó una disminución a través de los años. Esto podría ser resultado del aumento en las anomalías en la TSM, las cuales incrementaron drásticamente a partir de 2013 (Cuadro 4). Sumado a esto, entre 2013/2014 se registró una disminución severa en la pesca de sardina (Velarde y Ezcurra, 2015) e incluso en el cuadro 1 se puede ver el decremento en la pesca de sardina, anchoveta y macarela entre 2014 y 2016. La disminución de estas presas ya ha sido considerada como un factor de riesgo para las poblaciones que habitan desde el Norte al centro del Golfo (García-Rodríguez y Aurióles-Gamboa, 2004), por lo que probablemente también podría afectar la condición corporal de los individuos que habitan en esta zona.

En Islotes, la condición corporal fluctuó entre los años de muestreo, ya que durante 2014 se presentaron los valores más bajos de condición corporal, aumentaron para 2016 y disminuyeron nuevamente en 2020. Lo mismo ocurrió en el Archipiélago San Benito, ya que la condición corporal disminuyó a partir de 2014 e incrementó en 2019. Además, las medias más bajas de la condición corporal se encontraron en crías del Archipiélago de San Benito (2015, 2017) e Islotes (2020). Se sabe que las hembras que habitan en Islotes se alimentan de presas muy distintas respecto a las otras colonias (Pelayo-González *et al.*, 2020; Aurióles-Gamboa *et al.*, 2017). De esta manera, a pesar de tener alimento, si éste es de menor contenido energético o contiene menos grasas puede disminuir la masa de las madres y crías (Rosen y,

Trites, 1999; Donnelly *et al.*, 2003; McClatchie *et al.* 2016). A pesar de no conocer las especies que se consumieron en San Benito durante los años donde se encontró la menor condición corporal, en 2001 se determinó que sus principales presas fueron *Merluccius angustimanus* y *Loligo opalescens* (Aurióles-Gamboa y Camacho-Ríos, 2007), las cuales brindan nueve veces menos grasas y casi tres veces menos calorías que la sardina (cuadro 4). Sumado a esto, si el incremento en las anomalías en la TSM durante estos años provocó la disminución en las presas, se afectaría aún más a este parámetro (McClatchie *et al.* 2016).

CAPÍTULO 2: CAPACIDAD SÉRICA DE INHIBICIÓN BACTERIANA

2.1 INTRODUCCIÓN

2.1.1. Sistema inmune

El sistema inmune es una parte fundamental de los sistemas vivos, ya que asegura la protección y supervivencia de los organismos en un ambiente con alta cantidad de patógenos. El entorno intrauterino estéril en el que se encuentra el feto durante el desarrollo, provee al organismo de un sistema inmunitario preparado pero inactivo en el momento del nacimiento (McDade, 2004). Esto puede aumentar la susceptibilidad de los neonatos a adquirir enfermedades e infecciones (Kai-Larsen *et al.*, 2014).

El sistema inmune innato es la primera línea de defensa del organismo, e incluye la participación de barreras anatómicas (piel y membranas mucosas), proteínas antimicrobianas y células de defensa (McDade, 2004). Por su parte, el sistema inmune adaptativo incluye moléculas y células específicas: linfocitos (T), linfocitos (B), el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) e inmunoglobulinas (Smith *et al.*, 2019).

2.1.2. Sistema del complemento

Hace más de un siglo, Hans Christian Gram distinguió en las bacterias dos tipos de paredes celulares, basándose en la capacidad de éstas para teñirse. Las paredes de bacterias gram negativas presentan una membrana externa compuesta por lipoproteínas, fosfolípidos y lipopolisacáridos, una pared delgada con capas de peptidoglicanos (<10 nm) y una membrana citoplasmática. Las bacterias Gram positivas, por su parte, poseen una pared gruesa (20–80 nm) con múltiples capas de peptidoglicanos y la membrana citoplasmática. Estas características permiten que cada tipo de célula responda de diferente manera al medio o en este caso, al sistema inmune (Cabeen y Jacobs-Wagner, 2005).

A finales de los años 90 se descubrió que el suero humano tiene la capacidad para reconocer y eliminar bacterias, hongos y otros microorganismos (Rapp y Borsos, 1970). Poco tiempo después se determinó que esto sucede gracias a 40 proteínas o enzimas inactivas, es decir, que circulan como zimógenos (Owen *et al.*, 2013) producidas por el hígado, que forman parte del sistema inmune innato y que actualmente son conocidas como el sistema del complemento (Gasque *et al.*, 2000). Este sistema se desarrolla muy pronto durante el embarazo. La transferencia de los componentes del complemento de la madre al feto es muy baja (Lewis y Wilson, 2006), no obstante, la síntesis fetal de dichos componentes ya se puede detectar a las 6-14 semanas de gestación (Kohler, 1973; Gitlin y Biasucci, 1969).

Existen tres vías del complemento conocidas en la actualidad: la clásica, la alternativa y la vía de las lectinas (fig. 9). La vía clásica activa al primer componente del complemento (C1) en presencia de anticuerpos (IgG1, IgG2, IgG3 o IgM) unidos a antígenos. La formación del primer complejo activa una cascada de reacción, donde la porción “s” de C1 activa a C4 y lo corta en dos partes. C4b se pega a la membrana del patógeno y con ayuda de C1s, corta a C2 (en dos partes). C2b se une a C4b (formando la convertasa de C3) y dividen a C3 en dos partes. C3b se une al patógeno y se combina con la convertasa de C3 (formando la convertasa de C5) (Seelen *et al.*, 2005). A partir de este momento, se forma el complejo de ataque a la membrana (MAC) que perfora la membrana de la célula y provoca su lisis mediante ósmosis (Morgan, 1999).

La vía alternativa juega un papel muy importante en la defensa contra infecciones bacterianas, además, se estimula por la presencia de microorganismos y sin anticuerpos específicos. Todo comienza cuando el componente C3b se modifica y forma C3(H₂O), proteína que se une a B (formando C3B). El factor D corta a la proteína B en dos partes y la porción “b” se une a C3B formando la convertasa de C3 (C3bB). Ésta corta a C3 y la porción “b” se une a la convertasa de C3 formando la convertasa de C5. Posteriormente, se forma el complejo de ataque a membrana (Lutz *et al.*, 2007).

La vía de las lectinas comienza cuando la lectina de unión a manosa (MBL) se une a una bacteria con carbohidratos en su superficie. Esto activa a la proteína MASP, la cual corta a C4 y C2 (Harmat *et al.*, 2004). Posteriormente, el proceso es igual a la vía clásica.

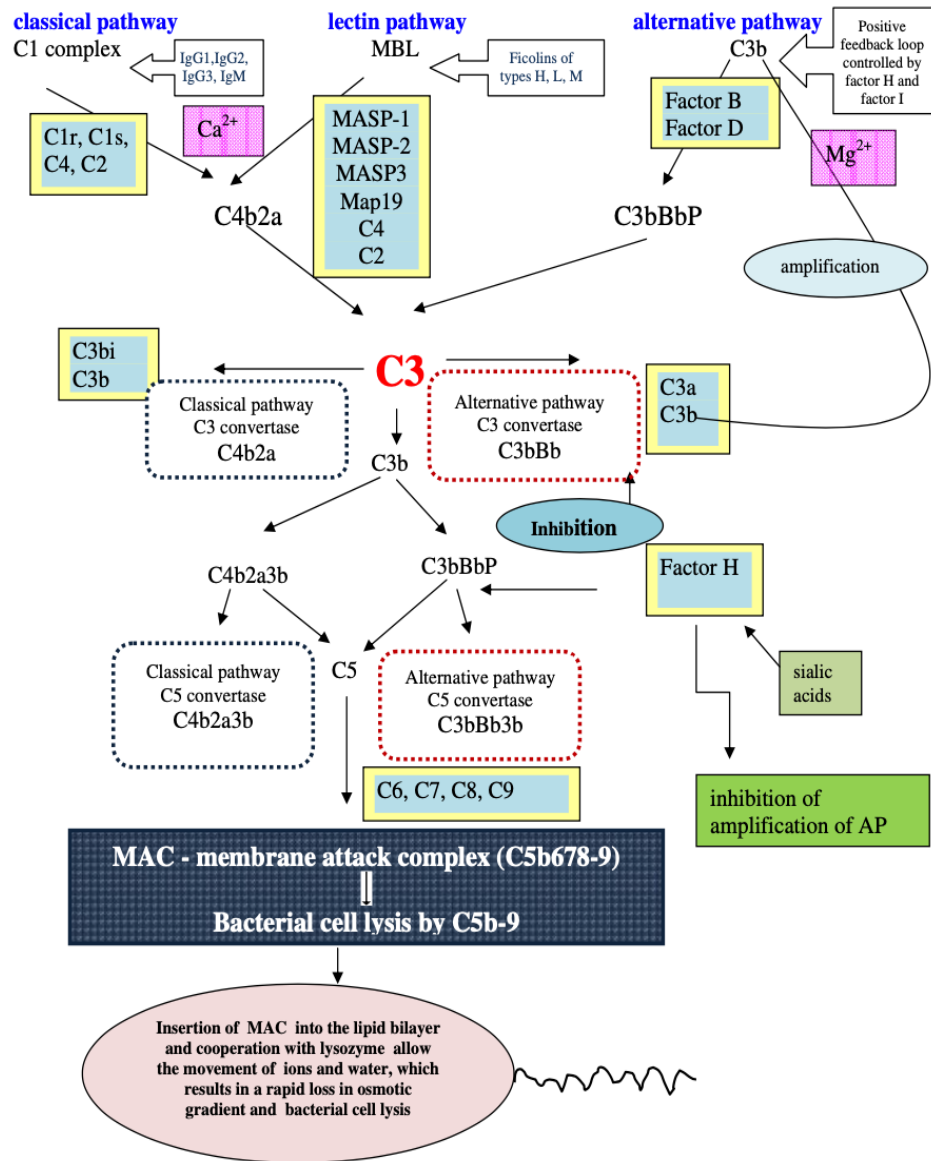


Fig. 9. Mecanismos del sistema del complemento: vía clásica, alternativa y vía de las lectinas. Imagen de Bugla-Ploskonska y colaboradores (2009).

2.1.3. Péptidos y proteínas antimicrobianas

Los péptidos antimicrobianos (AMP's por sus siglas en inglés) forman parte del sistema inmune innato. Estas son moléculas producidas por tejidos o diferentes células y también cuentan con propiedades bactericidas. Su carga catiónica y su naturaleza anfipática permite que los AMP's se interserten en las membranas citoplasmáticas de bacterias, generando poros y provocando así la eliminación de los patógenos. Se sabe que también pueden alterar la formación de la membrana citoplasmática y síntesis de la pared celular, entre otras acciones (Brodgen, 2005; Patrzykat *et al.*, 2006). También son conocidos como péptidos de defensa del huésped, ya que además de su capacidad antimicrobiana, son mediadores inmunes y permiten establecer respuestas inmunes adaptativas (Hancock *et al.*, 2016).

La desregulación de estas moléculas se asocia con varios efectos negativos, tales como el desarrollo de cáncer, enfermedades respiratorias y patologías autoinmunes (Hancock *et al.*, 2016). La nutrición se considera sumamente importante para modular estos mecanismos. Los aminoácidos ramificados básicos y esenciales, ácidos grasos de cadena corta, zinc y la vitamina D3 aumentan la expresión de una gran cantidad de péptidos, fortaleciendo así la defensa inmunológica (Liu *et al.*, 2006; Zeng *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2016; Talukder *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2020).

Los AMP's se producen desde el embarazo en el ser humano. Se sabe que son expresados por el corion y amnios (membranas que brindan protección al feto durante su desarrollo), en la placenta, el cordón umbilical y líquido amniótico (Feng *et al.*, 2003; King *et al.*, 2007; Yoshio *et al.*, 2003). Ya que se desarrollan muy pronto en la gestación y ya están presentes al momento del nacimiento, se consideran una defensa fundamental contra patógenos (Kai-Larsen, 2014). La leche materna también provee de péptidos antimicrobianos y proteínas antimicrobianas como las lisozimas (Woodward y, Draper, 2001; Armogida *et al.*, 2004). Estas son proteínas que destruyen los enlaces que mantienen la conformación de la pared celular de peptidoglicanos, por lo que son fundamentales para la acción bactericida del suero en bacterias Gram positivas y negativas (Ogundele, 1998). No obstante, estas

enzimas por sí solas no tienen actividad bactericida en bacterias gram-negativas (Facon *et al.*, 1996) y en algunos casos se ha determinado que el complemento no las necesita para eliminar bacterias. Las B-lisinas también juegan un papel importante ya que son componentes bactericidas del suero y pueden ser generadas por plaquetas o tener un origen diferente (Petterson, 1926).

2.1.4. Capacidad antimicrobiana del suero

Los experimentos para demostrar la capacidad del suero animal para eliminar patógenos, han sido extensos. Donaldson y colaboradores (1974) demostraron que la capacidad del suero de conejo para eliminar bacterias gram-negativas, ocurre cuando actúan en conjunto las lisozimas, el sistema del complemento y la beta-lisina producida por plaquetas. En su estudio, la actividad bactericida desapareció por completo cuando se inactivó al sistema del complemento (vía clásica). Finalmente, mediante microscopía electrónica, los autores determinan que el principal efecto del complemento ocurre en la pared celular de lipopolisacáridos y fosfolípidos, las lisozimas atacan la capa interna (peptidoglicanos) de la pared celular y por último, la beta lisina a la membrana citoplasmática.

Bugla-Ploskonska y colaboradores (2009) mezclaron diferentes serovariedades de *Salmonella* O48 con suero humano y bovino. Posteriormente esta mezcla se inoculó en placas de agar y se estimó el número promedio de colonias que habían crecido. Para comparar la efectividad del suero, en algunos experimentos se eliminaron las lisozimas o algunos componentes del complemento. Los resultados mostraron que tanto en el suero humano como bovino, la eliminación de siete cepas de *Salmonella* O48 solo ocurrió cuando trabajaron en conjunto las lisozimas y las proteínas del complemento. Nueve de las cepas de *Salmonella* mostraron resistencia al suero humano después de bloquear al complemento en su vía clásica o alternativa y eliminar a las lisozimas. *Salmonella Erlangen* fue sensible al suero humano cuando se eliminaron las lisozimas y la vía alternativa del complemento. Los escritores concluyen que la sensibilidad al suero difiere entre las serovariedades, ya que

existen diferencias en su contenido de proteínas (Bugla-Ploskonska *et al.*, 2004, Bugla-Ploskonska *et al.*, 2009).

Existe un costo energético asociado a la activación del sistema inmune. En un estudio que se llevó a cabo por Moret y Schmid-Hempel (2000) pusieron a prueba esta teoría inyectando abejorros con lipopolisacáridos y perlas de microlátex, provocando la activación del sistema inmune. El resultado mostró que la capacidad para sobrevivir disminuyó en animales con inanición, respecto a los abejorros bien alimentados. En ratas que han sido expuestas a una dieta con pocas proteínas, se ha observado una disminución en la respuesta del complemento; lo contrario se observa en ratas bien alimentadas, donde al ser expuestas a inyecciones de *S. aureus* se observa un aumento en su respuesta (Sakamoto y Nishioka, 1992) (fig. 10).

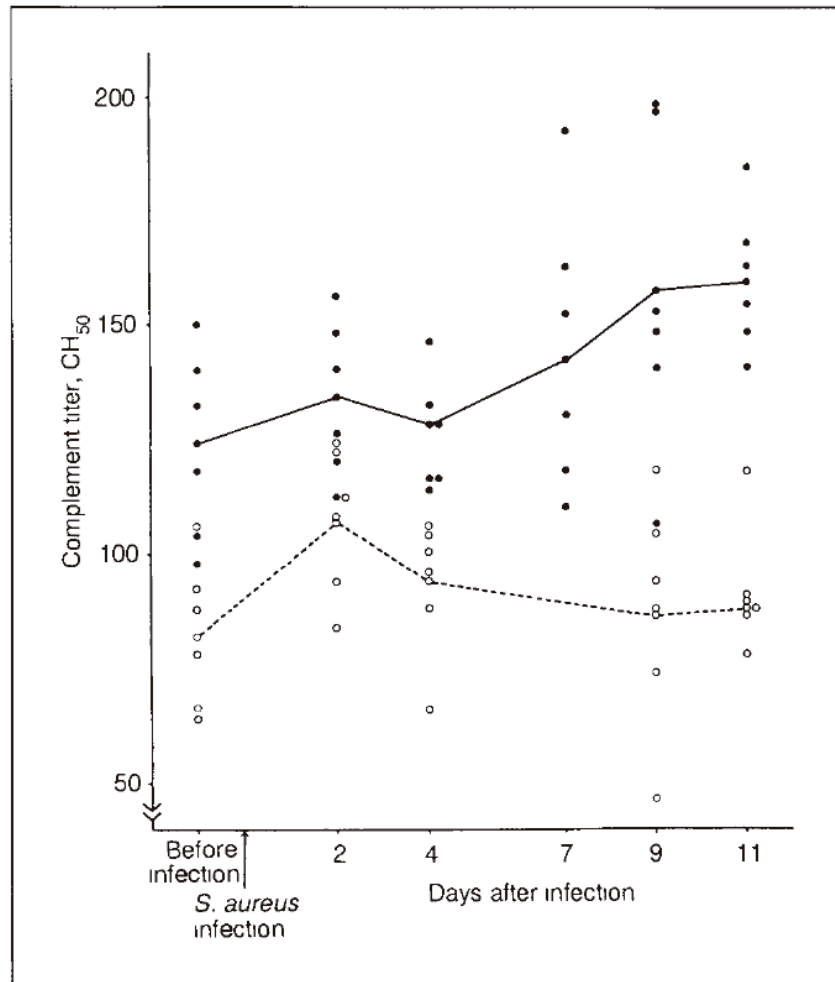


Fig. 10. Respuesta del complemento después de una infección severa con *S. aureus* en ratas bien alimentadas y mal alimentadas. 1 milímetro de 2×10^9 /ml de *S. aureus* en buffer fosfato salino se inyectó en la cavidad peritoneal en ratas de dos grupos: 1) Ratas con dieta a base de proteína (18%) (línea negra) y 2) Ratas con dieta a base de proteína (0.5%) (línea punteada). Imagen tomada de (Sakamoto y Nishioka, 1992).

De la misma manera, la capacidad de *Z. californianus* para sobrellevar la enfermedad puede verse afectada por la inmunosupresión o desnutrición (Gilmartin *et al.*, 1976; Gulland *et al.*, 1996). Los estudios con fitohemaglutinina (PHA) han sido utilizados para evaluar la eficacia del organismo para responder ante desafíos inmunológicos (Lawlorjr *et al.*, 1973). Banuet-Martínez y colaboradores (2017), compararon diversos marcadores de nutrición e inmunidad en crías que nacieron en 2012 (un año sin anomalías climáticas), respecto a 2014 y 2015 (años en que aumentó drásticamente la TSM). Se observó que la cantidad de anticuerpos (IgG, IgA) así como la respuesta a PHA, fueron menores en los años con anomalías en la TSM. Morales-Durán (2018) utilizó suero de crías neonatas de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*), para inhibir el crecimiento de *E. coli*, *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Se observó que las crías recién destetadas tienen una capacidad mayor para inhibir el crecimiento de *E. coli*, respecto a las crías con destete tardío. En el caso de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*, no se observó inhibición bacteriana para ninguna muestra.

Tomando esto en cuenta, en este capítulo se buscó investigar el efecto de las anomalías climáticas en la capacidad de inhibición sérica del suero de las crías, así como la relación que existe entre las reservas energéticas de los individuos (condición corporal) y su capacidad de inhibición.

2.2 HIPÓTESIS

El aumento en las anomalías de la temperatura superficial del mar provoca una disminución en la capacidad de inhibir a *E.coli* en neonatos de lobo marino de California.

2.3 OBJETIVO ESPECÍFICO

Investigar si las anomalías en la temperatura superficial del mar modifican la capacidad de inhibir a *E.coli* en neonatos de *Z. californianus*.

2.4 METODOLOGÍA

2.4.1. Inhibición del crecimiento bacteriano

Para la inhibición bacteriana, se utilizó un cultivo puro de la cepa de *Escherichia coli* (Topo 10, Invitrogen). Con un asa bacteriológica se tomaron colonias aisladas de la bacteria y se inocularon en placas de medio sólido LB (cada tres días, con la finalidad de mantener colonias de reciente crecimiento a lo largo de todo el experimento). Se tomó una colonia de bacterias con un asa bacteriológica y se suspendió en un tubo Falcon con 20 ml de medio líquido Mueller Hinton. Los tubos se incubaron a 37°C en agitación (250 rpm), durante un periodo de 1-2 horas. Posteriormente se midió 1 ml del cultivo en el espectrofotómetro para verificar que el cultivo alcanzara una densidad óptica de 0.08 - 0.1 (equivalente a la escala 0.5 de McFarland). En caso de que la densidad superara lo deseado, se ajustó agregando medio líquido Mueller Hinton. El tubo falcon con la bacteria se mantuvo en hielo, junto con las muestras de suero. Se sumergió un hisopo de algodón estéril en el cultivo de *E. coli*, oprimiendo contra las paredes del tubo para eliminar el exceso. Para inocular, se pasó el hisopo cubriendo toda la superficie de la placa, en zigzag y en tres direcciones.

Se prepararon placas con aproximadamente 25 ml de medio sólido Mueller Hinton. Se cortaron discos de papel para cromatografía (Whatman 3mm), utilizando una perforadora. Se colocaron los discos estériles sobre la superficie del agar utilizando unas pinzas. Se oprimió ligeramente el disco sobre la superficie del agar, y se agregaron 30 µl de suero en total (haciéndolo en 3 ciclos de 10 µl, para evitar que los discos se sobresaturaran). En el último papel filtro se agregaron 30 µl de solución salina estéril como control negativo. Se utilizaron 270 muestras de suero descongelado de crías y para cada ensayo se realizó un duplicado. Las placas se incubaron en posición invertida a 37°C por 20 horas. Se midieron los halos de inhibición utilizando un Bernier y se tomaron fotografías para analizar el diámetro de

los halos, utilizando el programa ImageJ. Este protocolo es una modificación del método de Kirby Bauer (Bauer *et al.*, 1966).

2.4.2. Análisis estadísticos

Se determinaron cuatro categorías, dependiendo del nivel de inhibición que se obtuvo en los ensayos. Dichas categorías fueron las siguientes: 0 (Sin inhibición), 1 (Inhibición incompleta), 2 (Inhibición con colonias aisladas) y 3 (Inhibición completa) (Fig. 11). Se llevaron a cabo modelos CLM (Cumulative Link Models, por sus siglas en inglés) para determinar la relación entre las anomalías en la TSM y los niveles de inhibición bacteriana (ya que las categorías son variables ordinales). Se construyó un modelo lineal generalizado (GLM) para determinar el efecto de la condición corporal en la inhibición sérica.

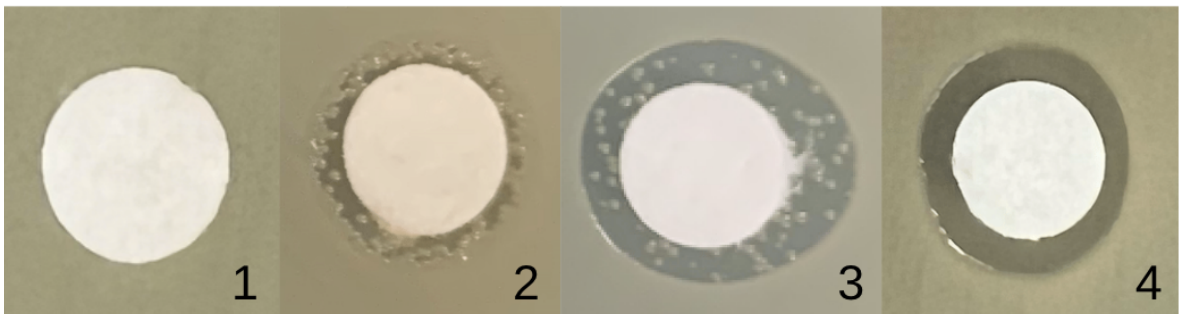


Fig. 11. Se muestran las categorías que se obtuvieron tras realizar los ensayos de inhibición. Se dividieron en 4 niveles: **1** (Sin inhibición), **2** (Inhibición incompleta), **3** (Inhibición con colonias aisladas) y **4** (Inhibición completa).

2.5 RESULTADOS

2.5.1. Inhibición bacteriana

En el cuadro 15 (fig. 12) se muestra el porcentaje de cada categoría de inhibición que se obtuvo en cada año de estudio. Durante 2012 se observaron la mayoría de crías que no inhibieron (20%), no obstante, la inhibición completa fue más elevada (40%). 2013 fue el año en que se observaron más casos de inhibición completa (72%) e inhibición con colonias aisladas (28%), pero a partir de 2014 los niveles de inhibición completa no volvieron a ser tan altos, ya que los años siguientes tuvieron porcentajes más altos de inhibición incompleta respecto a otras categorías altas. 2015 fue el año con mayor inhibición sérica incompleta (87.5%). El incremento en la anomalía a inicios y mediados del embarazo aumenta la inhibición bacteriana (Cuadro 13, modelo 1 y 2) y la disminuye durante el periodo de muestreo o al momento de nacer (junio-julio) (Cuadro 13, modelo 3). El incremento en la condición corporal de las crías, aumenta su capacidad para inhibir a *E. coli* (Cuadro 14).

Cuadro 13. Regresión ordinal construida para explorar la relación de las anomalías en la TSM y el nivel de inhibición.

Modelo 1. Nivel de Inhibición ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre) + Año				
Término	Estimado	Df	Chisq	P
Anomalía(Inicio)	1.6104	1	5.3442	0.02079 *
Año	NA	8	44.8665	3.901 ⁻⁰⁷ ***
Modelo 2. Nivel de Inhibición ~ Anomalía (Enero-Febrero) + Año				
Término	Estimado	Df	Chisq	P
Anomalía(Mediados)	1.9829	1	7.2818	0.006966 **
Año	NA	8	40.2297	2.903 ⁻⁰⁶ ***
Modelo 3. Nivel de Inhibición ~ Anomalía (Junio-Julio) + Año				
Término	Estimado	Df	Chisq	P
Anomalía(Periodo de muestreo)	-0.23983	1	5.4022	0.02011 *
Año	NA	8	34.1673	3.789 ⁻⁰⁵ ***

NA= No aplica dado que son variables categóricas.

Cuadro 14. Modelo lineal generalizado construido para determinar la relación entre la inhibición sérica y la condición corporal.

Modelo 4. Nivel de Inhibición ~ Condición corporal				
Término	Estimado	Df	Chisq	P
Condición corporal	0.20763	1	21.222	4.09 ⁻⁰⁶ ***

Cuadro 15. Se muestra el porcentaje de inhibición por categoría, en cada año de estudio (2012-2020).

Categoría	Año									
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Sin inhibición	20.00	0.00	6.90	6.25	1.87	0.00	0.00	0.00	0.00	
Inhibición incompleta	13.33	0.00	20.68	87.50	43.93	43.75	57.14	78.57	37.78	
Inhibición con colonias aisladas	26.67	28.57	3.45	0.00	21.50	31.25	14.29	21.43	24.44	
Inhibición completa	40.00	71.43	68.97	6.25	32.71	25.00	28.57	0.00	37.78	
Total	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	

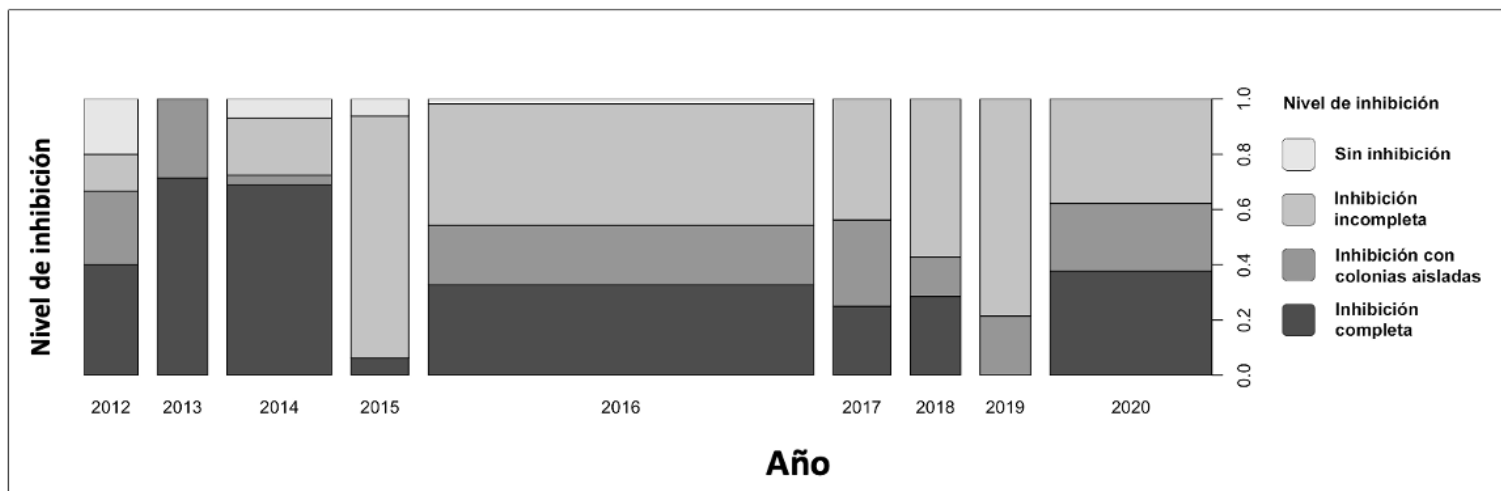


Fig. 12. Comparación de los niveles de inhibición respecto a los años de nacimiento de las crías. Los colores representan la proporción total de cada categoría. El ancho de las barras corresponde al número de muestras analizadas.

2.6 DISCUSIÓN

La primera predicción de este capítulo fue que la inhibición bacteriana del suero de las crías disminuiría conforme aumentaba la TSM. Lo que se observó fue que la inhibición sérica aumentó a inicios y mediados del embarazo a pesar del incremento de la TSM. Durante el embarazo, el feto comienza a desarrollar los sistemas de defensa que necesitará para el resto de su vida, es por esto que muy pronto durante la gestación ya pueden detectarse ciertos péptidos antimicrobianos, así como componentes del complemento (Kohler, 1973; Gitlin y Biasucci, 1969; Kai-Larsen, 2014). Al comienzo del embarazo (primer y segundo trimestre), la formación de la placenta incrementa las células apoptóticas, fragmentos de ADN libre y otros procesos que requieren el aumento en la activación de ciertos componentes del complemento (He *et al.*, 2020). Lo mismo ocurre con diversos péptidos microbianos, los cuales son necesarios para mantener un embarazo saludable. En este caso, muchas de estas moléculas se expresan en diversas estructuras o tejidos de la madre y el feto, como parte de una estrategia natural de defensa (Kai-Larsen *et al.*, 2014).

Por otro lado, el incremento en las anomalías en la TSM provocaron una disminución en la capacidad de inhibir a *E.coli* en las crías ya nacidas (junio-julio). Las anomalías climáticas y los eventos de calentamiento cortos como El Niño, se consideran estresores para diversas especies de otáridos y fócidos (Trillmich *et al.*, 1991). Se ha determinado que el estrés crónico en ratas perjudica su respuesta inmune, provocando una disminución en los niveles de CH50 (molécula que refleja la función completa de la vía clásica del complemento) (Ayensu *et al.*, 1995). De la misma manera, el estrés podría disminuir los niveles del complemento en el suero de las crías de lobo marino, los cuales son necesarios para destruir bacterias gram negativas y otros patógenos.

El estrés provoca la liberación de glucocorticoides, los cuales son inmunomoduladores que pueden afectar a diversas células inmunes y al sistema inmune en general (Bellavance y Rivest, 2014). No existe ningún trabajo previo donde haya estudiado el sistema del complemento en *Z. californianus*, no obstante, ya se ha propuesto que el estrés crónico (provocado por los eventos de calentamiento), puede generar la desregulación del eje Hipotálamo-Pituitario-Adrenal (HPA) y por lo tanto, de ciertas hormonas y marcadores inmunes (DeRango et al., 2019). Por otro lado está el efecto de la alimentación en el desarrollo temprano. Las proteínas del complemento son sintetizadas en el hígado (Owen et al., 2013; Gasque et al., 2000) y tomando en cuenta que puede existir un cambio en las células hepáticas tras condiciones de desnutrición (Desai et al., 1995; Jungermann, 1986), no puede descartarse la idea de que las proteínas del complemento también podrían verse afectadas por la mala alimentación durante la gestación.

En este trabajo, la inhibición bacteriana del suero varió dependiendo del año de nacimiento de la cría. Durante 2012 la inhibición completa fue elevada y aumentó para 2013 y 2014, por lo que ambos años tuvieron la mayor cantidad de casos con inhibición completa. A partir de 2015 incrementaron los porcentajes de inhibición incompleta y continuó siendo la categoría dominante hasta el último año de muestreo (2020), por lo que los niveles de inhibición completa no se recuperaron. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el capítulo 1, donde se observó que 2013 fue el año con mayor condición corporal y en los siguientes años comenzó a disminuir.

La pesca de pelágicos menores como la sardina, es una actividad económica importante en el Golfo de California, que se basa en la demanda y que actualmente no considera las variables oceanográficas interanuales, afectando aún más a la cantidad de alimento disponible para el lobo marino en años con anomalías climáticas (Gallo-Reynoso, 2019). De esta manera, los fenómenos de calentamiento

que se presentaron entre 2013-2015 como “La Mancha” y “El Niño” (Bond *et al.*, 2015; Jacox *et al.*, 2016), el aumento en la temperatura de la zona mínima de oxígeno ubicada en el sur del Golfo de California (Sánchez-Pérez *et al.*, 2021), sumado al esfuerzo pesquero en toda la región (Velarde y Ezcurra, 2015; Gallo-Reynoso, 2019), podrían estar modificando el ecosistema en el que habita el lobo marino de California y provocando la disminución en la inhibición sérica bacteriana.

Banuet-Martínez y colaboradores (2017) pusieron a prueba la eficacia para responder a desafíos inmunológicos en crías de esta especie y observaron que las respuestas disminuyeron drásticamente en 2015. De la misma manera, en la fig. 12 se observa que 2015 fue el año con mayor inhibición sérica incompleta, lo que indica una deficiencia en la eliminación de patógenos en la mayoría de las crías muestreadas durante esa época.

Los resultados de este capítulo también demostraron que el aumento de la condición corporal de las crías incrementa la inhibición de *E. coli*, por lo que a mayores reservas energéticas mayor es la capacidad para responder ante desafíos inmunes. Esto concuerda con los hallazgos de Morales-Durán (2018), quien observó que la capacidad de inhibir a *E. coli*, fue mayor en crías de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) recién destetadas que en aquellas que tenían menores recursos debido al destete tardío. Seguel y colaboradores (2018), encontraron que en el lobo marino sudamericano, el tiempo que las madres pasan con las crías determina la capacidad de éstas para combatir infecciones. En los años en que incrementa la TSM, la productividad primaria se ve afectada y disminuyen las presas disponibles para las hembras embarazadas y lactantes (Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016), por lo que las crías no tienen una alimentación adecuada y su capacidad para establecer respuestas inmunes disminuye (Marcos *et al.*, 2003).

La inhibición sérica es un reflejo indirecto de la calidad y cantidad de la leche que produjeron las madres, así como de las reservas energéticas de la cría en los momentos en que se realizaron los muestreos. En un neonato sano, los niveles de los componentes del complemento (ya sea de la vida clásica o alternativa), se encuentran dentro del rango normal para un adulto (Lewis y Wilson, 2006). En ratas bien nutridas, la respuesta del sistema del complemento aumenta al ser inyectadas con patógenos (Sakamoto y Nishioka, 1992) y disminuye cuando su dieta es baja en proteínas. Lo contrario sucede cuando la alimentación es rica en ciertos macronutrientes y micronutrientes, como se ha visto con los péptidos antimicrobianos, los cuales aumentan su expresión tras ingerir cantidades adecuadas de vitamina D3 y otras moléculas (Liu *et al.*, 2006; Zeng *et al.*, 2013; Ren *et al.*, 2016; Talukder *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2020). De esta manera, los componentes del completo y los péptidos antimicrobianos que se encuentran en el suero pueden modificarse dependiendo de estos factores, razón por la cual se encontraron diferencias en la inhibición entre los años de estudio.

Los sitios de nacimiento de las crías tienen características individuales oceanográficas e incluso genéticas que podrían enmascarar los efectos negativos de las anomalías climáticas, dándoles a ciertos individuos una mejor capacidad para montar respuestas inmunes y deshacerse de los patógenos con mayor facilidad. Por esta razón, el aumento en la TSM no debe considerarse el único factor limitante de la inhibición bacteriana, dado que se trata de un estudio ecológico que involucra una gran cantidad de variables y procesos estocásticos.

CAPÍTULO 3: CONTEOS CELULARES DE ERITROCITOS Y LEUCOCITOS

3.1 INTRODUCCIÓN

3.1.1. Los eritrocitos

Los eritrocitos son las células rojas que proveen de oxígeno a los órganos y tejidos del cuerpo gracias a la proteína hemoglobina. Estas células tienen una forma bicóncava y carecen de núcleo. Cuentan con una membrana compuesta por colesterol y fosfolípidos (en cantidades equilibradas) y con un citoesqueleto que mantiene la forma de la célula y permite que recuperen su forma original después de pasar por los estrechos capilares durante la circulación (Christopher, 2004). Estas células se producen en la médula ósea a partir de células madre hematopoyéticas y se diferencian hasta formar un eritrocito maduro, mediante un proceso conocido como eritropoyesis (Koury *et al.*, 2002).

Este proceso se activa muy pronto durante el embarazo, ya que durante el desarrollo se requieren niveles adecuados de oxígeno para el embrión. La hematopoyesis embrionaria ocurre en el saco vitelino y provee de células eritroides “primitivas” desde el primer mes de desarrollo (Tavian y Peault, 2005; Tavian *et al.*, 1999). Posteriormente, las células madre migran al hígado, donde los eritrocitos definitivos (no primitivos) comienzan a diferenciarse y a circular en el embrión (Peschle *et al.*, 1985). Poco tiempo después las células madre hematopoyéticas se establecen en la médula ósea y estas seguirán produciendo los eritrocitos necesarios para la vida post-natal (Tavian y Peault, 2005; fig. 13).

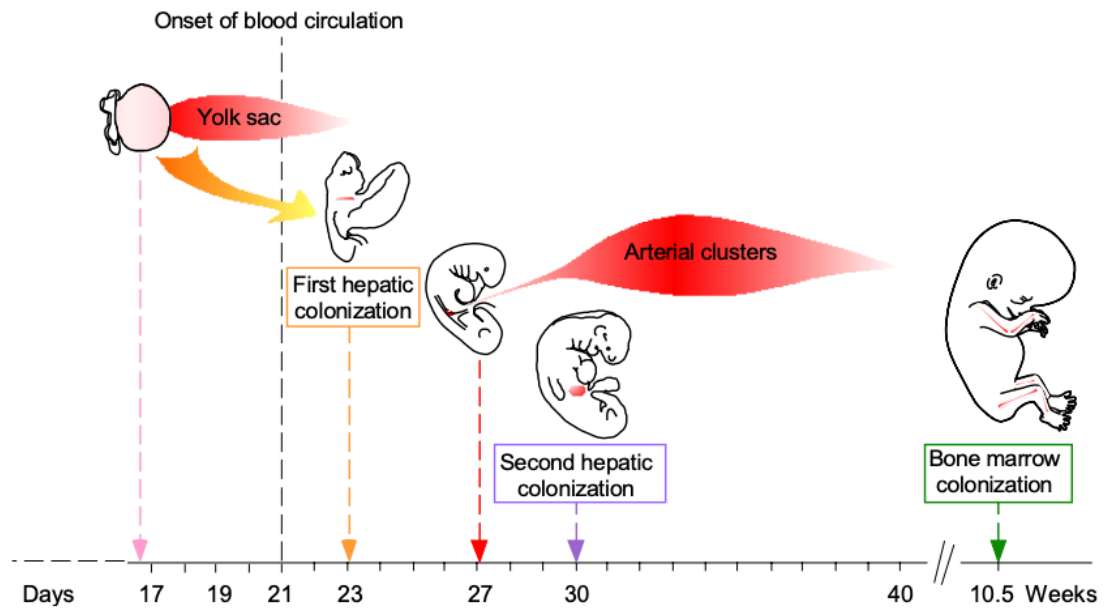


Fig. 13. Cronología de la aparición de las células madre hematopoyéticas en el embrión humano en desarrollo. Imagen tomada de Tavian y Peault, 2005.

Para que la eritropoyesis se cumpla efectivamente es necesario que el organismo cuente con cantidades adecuadas de nutrientes, entre ellos, folato, vitamina B12 y hierro. El folato y vitamina B12 juegan un papel muy importante, siendo indispensables en la síntesis de nucleótidos. Una carencia de ambos nutrientes afecta la síntesis/repación de ADN, por lo que se provoca la muerte prematura de las células rojas (Koury y Ponka, 2004). El hierro es fundamental en la síntesis de los grupos hemo, los cuales conforman la estructura de la hemoglobina. La carencia de este nutriente provoca la producción retardada de reticulocitos, así como una disminución en el tamaño y cantidad de hemoglobina en las células (Koury y Ponka, 2004). Los cambios en la composición de ácidos grasos saturados o insaturados en la membrana celular afecta a su fluidez y deformabilidad (la capacidad para recuperar su forma original) (Else y Hulbert, 2003; Witte *et al.*, 2010; Radzikowska *et al.*, 2019; Kamada *et al.*, 1986; Hessel *et al.*, 1990). La deformabilidad también

se puede ver afectada por la composición de lípidos en la membrana y las interacciones entre éstos con las proteínas (Lee y Shin, 2015).

El estrés oxidativo es un fenómeno que puede ser provocado por envejecimiento, desnutrición, inflamación y enfermedades crónicas (Liguori *et al.*, 2018). Éste modifica el equilibrio entre los radicales libres (oxidantes) y reductores en un organismo, provocando daños principalmente en ADN, proteínas y ácidos grasos insaturados (Granot y Cohen, 2004). Debido a los radicales libres producidos, la peroxidación lipídica es activada, por lo que se genera daño en membranas celulares, lipoproteínas y otras moléculas que contengan lípidos (Jancic & Stosic, 2014). Existen micronutrientes considerados agentes reductores, ya que tienen la capacidad de contrarrestar la formación de los radicales libres (Shite *et al.*, 2001). La vitamina E (o tocoferol), por ejemplo, es el antioxidante más efectivo en las células ya que inhibe la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Benítez, 2006), por lo que se considera un nutriente esencial para mantener la integridad estructural de las membranas (Tesoriere *et al.*, 1995; Tesoriere L, 1996).

En general, la deformación de la membrana de las células rojas puede ser provocada por diversas razones; la carencia de diversos nutrientes, desnutrición, problemas hereditarios (Gallagher, 2013), enfermedades autoinmunes o fragmentación mecánica (Christopher, 2004). Esto genera un incremento en las morfologías atípicas que se observan en un frotis sanguíneo normal, por lo que se considera una herramienta eficaz al diagnosticar una patología (Adewoyin *et al.*, 2019). Algunas de las morfologías atípicas de eritrocitos se resumen en el cuadro 16, así como las posibles patologías asociadas.

Cuadro 16. Morfologías atípicas de eritrocitos y las causas asociadas a su aparición.

Morfología atípica	Descripción	Patología asociada o causa
Acantocito	Pequeñas y densas, sin un área de palidez central con múltiples espículas de diferentes longitudes que sobresalen de la membrana.	Hereditario o adquirido. La membrana sufre de un desbalance entre el colesterol-lípidos, perdiendo deformabilidad. Deficiencia de vitamina E, enfermedad hepática. (Cochran-Black, 2015; Manchanda, 2015; Turgeon, 1999; Harmening, 2009; Palmer <i>et al.</i> , 2015).
Queratocitos	Presentan una hendidura semicircular en el borde de su membrana, lo que aparenta una "mordida".	Cuando las células presentan inclusiones, los macrófagos las remueven y permanece una hendidura. Deficiencia de G6PD. (Ford, 2013; Jones, 2009; Palmer <i>et al.</i> , 2015).
Equinocitos	Múltiples proyecciones en su membrana, de la misma longitud y distribución.	Artefacto. Enfermedades renales o hepáticas. (Landis-Piwowar <i>et al.</i> , 2015; Ford, 2013; Palmer <i>et al.</i> , 2015).
Eliptocitos	Forma de cigarro, lápiz, bacilo o varilla.	Eliptocitosis hereditaria, deficiencia de hierro, anomalías en las proteínas de membrana y su interacción con la bicapa lipídica. (Palmer <i>et al.</i> , 2015; Christopher, 2004).
Hipocromía	Menor cantidad de hemoglobina en la zona central.	Talasemia, deficiencia de hierro. (Palmer <i>et al.</i> , 2015; Ventimiglia <i>et al.</i> , 2017).

Macroцитos	Células de mayor tamaño que el promedio (diámetro mayor a 8 μm).	Deficiencia de vitamina B12 y folato. Pueden estar presentes en recién nacidos y neonatos. (Palmer <i>et al.</i> , 2015; Ventimiglia <i>et al.</i> , 2017).
Codocitos o dianocitos	La hemoglobina se concentra en el centro y periferia; entre estas dos áreas existe una zona sin coloración.	Talasemia, enfermedad hepática, deficiencia de hierro, hemoglobinopatías, artefacto. (Landis-Piwowar <i>et al.</i> , 2015; Turgeon, 1999; Rodak, 2017; Palmer <i>et al.</i> , 2015).
Esquistocitos	Fragmentos de las células, con diferentes formas y tamaños.	Fragmentación mecánica (hemólisis activa), deficiencia de hierro, anemias hemolíticas, quemaduras severas. (Rodak, 2017; Landis-Piwowar <i>et al.</i> , 2015; Ford, 2013; Jones, 2009; Ratnaningsih <i>et al.</i> , 2020).
Microцитos	Células de menor tamaño que el promedio (diámetro menor a 7 μm).	Deficiencia de hierro, talasemia, hemoglobinopatías. (Palmer <i>et al.</i> , 2015; Ventimiglia <i>et al.</i> , 2017).
Dacriocitos	Forma de lágrima o pera, con una proyección.	Talasemia, hemoglobinopatías, mielofibrosis, enfermedad hepática. (Rodak, 2017; Palmer <i>et al.</i> , 2015).
Esferocitos	Forma redondeada, coloración intensa y sin palidez central.	Esferocitosis hereditario, anemia hemolítica. (Palmer <i>et al.</i> , 2015; Ventimiglia <i>et al.</i> , 2017).
Excentrocitos	La hemoglobina se distribuye en los extremos, dejando una zona vacía en su centro.	Deficiencia de G6PD, daño oxidativo. (Merino, 2014; Christopher, 2004).
Policromasia	Tinción azulada debido a un alto nivel de ribosomas, mayor tamaño al promedio.	Inmadurez celular (reticulocitos). (Merino, 2014, Ventimiglia <i>et al.</i> , 2017)

3.1.2. Los leucocitos

Los leucocitos son las células blancas que se encargan de las respuestas inmunes innatas y humorales en el organismo (Tigner *et al.*, 2021). Se pueden dividir en granulocitos y agranulocitos, los cuales son originados en la médula ósea a partir de células madre hematopoyéticas que dan lugar a los dos linajes de leucocitos: la línea mieloide y linfoide (Granick *et al.*, 2012).

Dentro de los granulocitos se encuentran los neutrófilos, basófilos y eosinófilos. Éstos contienen gránulos azurófilos (lisozimas) y otros tipos gránulos, los cuales varían dependiendo de la función del tipo celular (Tigner *et al.*, 2021). Los neutrófilos tienen un núcleo multilobulado (con 3-5 segmentos) que se tiñe de púrpura. Su citoplasma usualmente es de color claro, no obstante, presenta múltiples gránulos intracitoplasmáticos (Cowell *et al.*, 2008; Tigner *et al.*, 2021). Representan la mayor parte de los leucocitos (hasta 50-70%) y son la primera línea de defensa celular, por lo que son fundamentales para controlar infecciones bacterianas y fúngicas (Kruger *et al.*, 2015; Carrick y Begg, 2008). Algunas situaciones como infecciones agudas e inflamación requieren que la médula ósea envíe una mayor cantidad de neutrófilos maduros, no obstante, las reservas son limitadas. Cuando la necesidad supera la capacidad de producción de neutrófilos maduros, comienzan a enviarse neutrófilos inmaduros o en banda al torrente sanguíneo. Éstos tienen un núcleo no segmentado (en forma de banda), cromatina nuclear menos densa y tamaño semejante al de un neutrófilo maduro. Generalmente, mientras la inflamación se vuelve más severa, comienzan a enviarse formas cada vez más inmaduras. Los neutrófilos también pueden hipersegmentarse debido a ciertas razones, como la edad de las células, deficiencia de vitamina B12 y ácido fólico e incluso como un artefacto en la preparación de los frotis sanguíneos (Valenciano *et al.*, 2014).

Los eosinófilos tienen un mayor tamaño que los neutrófilos y un núcleo generalmente bilobulado. El citoplasma se encuentra lleno de gránulos de color rojo-rosado, aunque las características de los gránulos puede modificarse dependiendo

de la especie (Cowell *et al.*, 2008). Estos gránulos pueden ser primarios o secundarios y tienen efectos citotóxicos, por lo que son liberados como mecanismos de defensa contra parásitos, virus y bacterias (Shamri *et al.*, 2011; Ravin y Loy, 2015).

Los basófilos tienen un núcleo bilobulado y su citoplasma contiene múltiples gránulos que se tiñen de color azul-púrpura (Tigner *et al.*, 2021). Son las células efectoras de las reacciones alérgicas y presentan diversos receptores que son activados por compuestos específicos, los cuales inician cascadas bioquímicas específicas y liberan mediadores inflamatorios (Valent y Battelheim, 1990).

Los agranulocitos son los monocitos y linfocitos. Los monocitos cuentan con abundante citoplasma que puede presentar extensiones y vacuolas, con un núcleo muy grande con forma de “C” o “U” y gránulos de color azul-gris muy tenue (Valenciano *et al.*, 2014). Representan menos del 10% del total de leucocitos circulantes (Théry y Amigorena, 2001). Estas células circulan por poco tiempo en el torrente sanguíneo y cumplen diferentes funciones, como la eliminación de células senescentes y patógenos, remodelación de tejidos y regulación de respuestas inmunes e inflamatorias (Yona y Jung, 2010). Se encargan de activar a los linfocitos T, iniciando así las respuestas inmunes adaptativas (Théry y Amigorena, 2001).

Los linfocitos representan hasta el 25% del total de los leucocitos y se dividen en diferentes grupos, como los linfocitos T y B (Tigner *et al.*, 2021). Su tamaño es menor que los neutrófilos, su núcleo es redondeado (aunque generalmente presenta hendiduras) y su citoplasma escasamente basófilo. El núcleo cubre casi toda la superficie de la célula, por lo que muchas veces únicamente se observa una pequeña porción del citoplasma (Cowell *et al.*, 2008).

Los conteos de estas células en los frotis sanguíneos permiten determinar la salud de los individuos. Si los conteos se encuentran por encima o por debajo de los rangos normales, es posible determinar una patología que puede ser causada por

un aumento en el número de cierto tipo celular o una combinación de tipos celulares. En el cuadro 17 se observan las desviaciones de los conteos de leucocitos respecto a la referencia, así como las posibles causas.

Cuadro 17. Desviación de los leucocitos respecto a los intervalos normales y sus causas. Tabla elaborada a partir de los datos de Valenciano y colaboradores (2014), Tigner y colaboradores (2021) y Carrick y Begg (2008).

Célula	Desviación	Patología asociada
Leucocitos	Leucocitosis: Conteo total de células blancas por encima del rango normal. Generalmente provocada por un incremento en la cantidad de neutrófilos	Infecciones bacterianas y virales, heridas y quemaduras, estrés.
	Leucopenia: Conteo total de células blancas por debajo del rango normal. Generalmente provocada por una disminución en la cantidad de neutrófilos	Herida severa, infecciones bacterianas y virales severas, defectos en la hematopoyesis.
Linfocitos	Linfocitosis: Conteo por encima del rango normal.	Excitación, actividad física, dolor y trauma, estimulación crónica inmune.
	Linfopenia: Conteo por debajo del rango normal.	Infecciones virales y bacterianas crónicas, estrés, enfermedad autoinmune.
Neutrófilos	Neutrofilia: Conteo por encima del rango normal.	Infecciones bacterianas, virales agudas, heridas con inflamación, estrés o excitación.
	Neutropenia: Conteo por debajo del rango normal.	Infecciones virales y bacterianas crónicas, herida severa, defectos en la hematopoyesis.
Neutrófilos inmaduros	Inmadurez regenerativa: Predominancia de células maduras con presencia de algunas inmaduras	Respuesta normal a la inflamación
	Inmadurez degenerativa: Predominancia de células inmaduras	Infecciones severas, inflamación sistémica.

Monocitos	Monocitosis: Conteo por encima del rango normal.	Inflamación agudas y crónicas, infección bacteriana, estrés.
Eosinófilos	Eosinofilia: Conteo por encima del rango normal	Parasitismo, alergias.
Basófilos	Basofilia: Conteo por encima del rango normal.	Parasitismo, alergias. Suele estar acompañada de eosinofilia.
	Basopenia: Conteo por debajo del rango normal.	

Los leucocitos se desarrollan muy temprano en el embarazo al igual que los eritrocitos. Los precursores de neutrófilos se detectan prematuramente en el saco vitelino y posteriormente en el hígado, bazo y médula ósea; para las 14-16 semanas de gestación estas células ya son maduras (Christensen, 1989; Playfair *et al.*, 1963; Lewis y Wilson, 2006). Durante el segundo trimestre, ya están presentes todos los linajes de las células hematopoyéticas que darán lugar a las células involucradas en las respuestas inmunes (Lewis y Wilson, 2006). Los linfocitos T y B, se encuentran circulando en el feto al final del primer trimestre y alcanzan niveles de adulto durante el segundo trimestre. Las proteínas del complemento y monocitos se han identificado después de siete semanas de gestación (Wilson, 1990; Blackburn y Loper, 1992).

3.1.3. Infecciones de relevancia en el lobo marino de California

El estrés crónico puede generar un cambio adaptativo en las especies (Boonstra, 2013). También provoca una disminución en la capacidad del sistema inmune para responder a los desafíos del medio, ya que ciertas respuestas suelen tener un alto costo energético (McEwen *et al.*, 1997; McDade *et al.*, 2016). Sumado a esto, los efectos del aumento en la TSM aumentan la susceptibilidad de estos animales a contraer enfermedades o modifican la relación patógeno-hospedero (Marcogliese, 2001, 2008). Previamente se ha considerado que algunas bacterias aisladas en crías de *Z. californianus* podrían volverse patogénicas para individuos inmunosuprimidos (Zavala-Norzagaray *et al.*, 2022).

Uncinaria spp. es un patógeno que se ha encontrado en crías de esta especie y se transmite a partir de la orina de individuos infectados y de madre a cría a partir del calostro (Lyons *et al.*, 2001). La incidencia de enfermedades como la Leptospirosis, una enfermedad bacteriana ocasionada por la espiroqueta *Leptospira interrogans*, ha sido asociada a la cercanía con parques de perros y por lo tanto con áreas metropolitanas densamente pobladas (Norman *et al.*, 2008). No obstante, de

acuerdo a Acevedo-Whitehouse y colaboradores (2003) las serovariedades que se han detectado en el Golfo de California no han provocado efectos negativos en esta especie, sugiriendo una posible adaptación entre patógeno-hospedero. También ha sido aislada en fetos abortados de la misma especie, donde se encontraron lesiones asociadas (Gilmartin *et al.*, 1976). La *Brucella* se registró en la colonia San Esteban, Golfo de California (Ávalos-Téllez *et al.*, 2014) y junto con *T. gondii* se consideran causa de abortos en las hembras (Goldstein *et al.*, 2008; Carlson-Bremer *et al.*, 2015). También se ha determinado la presencia de *Salmonella*, *E. coli* y *P. aeruginosa* en la cavidad rectal/oral de crías de lobo marino de California en Farallón San Ignacio, Golfo de California (Zavala-Norzagaray *et al.*, 2022). Altas cargas parasitarias de gusanos (Filariasis) también se han registrado en el Golfo de California, sin mostrar efectos negativos en la salud de las hembras adultas de esta especie (Farriols *et al.*, 2020).

En crías muestreadas entre 2015-2016 en el Archipiélago San Benito y Golfo de California se encontró que el 50% de los individuos tenían infección por Adenovirus, sin mostrar algún efecto negativo en la salud de los animales (Soto-García, 2016). Rotavirus también ha sido detectado en crías del Golfo de California, teniendo una mayor prevalencia en la colonia El Partido, seguido por Islotes (Soto-García, 2014). Poxvirus se ha detectado en lobos marinos de California (Estados Unidos) hospitalizados, donde las lesiones asociadas se observaron en crías de un año y subadultos. Actualmente se considera una enfermedad común en las poblaciones silvestres, aunque se desconoce su prevalencia (Nollens *et al.*, 2005).

3.1.4. Nutrición y células sanguíneas

La nutrición durante el embarazo juega un papel fundamental en el desarrollo de la inmunidad, ya que provee de nutrientes y antígenos que permiten la maduración del sistema inmune y sus tejidos, así como el desarrollo de la microbiota y la modulación de las respuestas autoinmunes (Calder *et al.*, 2006). Ya que el sistema inmune comienza a desarrollarse muy pronto durante el embarazo, cualquier problema que

se presente durante esta etapa tendrá mayor impacto que lo que ocurra en la vida postnatal y determinará la capacidad del organismo para establecer respuestas inmunes adecuadas (McDade, 2004). En el Golfo de California, la disminución de la productividad primaria en las zonas de alimentación de las madres (Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016) ha tenido un efecto negativo en el sistema inmune de las crías que se desarrollan y nacen en estas temporadas. En un estudio que se llevó a cabo por Banuet-Martínez y colaboradores (2017), se contabilizaron las células blancas que se encontraron en crías que nacieron en 2012, 2014 y 2015. No se encontraron basófilos en crías nacidas en 2015, se observaron nueve veces más neutrófilos en banda en crías que nacieron en 2014 y 2015, el 50% de las crías que nacieron en 2015 tuvieron neutrófilos hipersegmentados y se observó una gran cantidad de células inmaduras y eosinófilos en los años con mayor severidad climática (Banuet-Martínez *et al.*, 2017).

También se han observado morfologías atípicas de eritrocitos en crías neonatas de *Z. californianus* que nacieron en años caracterizados por eventos climáticos anómalos. En una comparación entre frotis sanguíneos de crías que nacieron en Isla Granito (2012) respecto a las que nacieron en el Archipiélago San Benito (2014 y 2015), se encontró mayor cantidad de células atípicas como reticulocitos, acantocitos, excentrocitos, equinocitos, eliptocitos, queratocitos y esferocitos en 2014 y 2015. En crías que nacieron durante 2015 se hallaron más codocitos y queratocitos, mientras que en 2014 se encontraron más reticulocitos, microcitos y eliptocitos. Los dacrocitos, esquistocitos y cuerpos de Heinz, no mostraron diferencias significativas entre los años, por lo que se considera que a pesar de ser morfologías atípicas, son normales durante el desarrollo de las crías (Flores-Morán *et al.*, 2017).

3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. El incremento en las anomalías en la temperatura superficial del mar explica los conteos elevados o disminuidos de leucocitos en las crías de *Z. californianus*.
2. El incremento en las anomalías en la temperatura superficial del mar predicen las morfologías atípicas de eritrocitos encontradas en las crías de lobo marino de California.

3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Investigar si las anomalías en la temperatura superficial del mar predicen las alteraciones en los conteos de leucocitos en crías neonatas de *Z. Californianus*.
2. Investigar la relación que existe entre la temperatura superficial del mar y las morfologías atípicas de eritrocitos encontradas en las crías de lobo marino de California.

3.4 METODOLOGÍA

Las muestras de sangre (5-7 ml) se obtuvieron de la vena glútea caudal, utilizando una aguja de calibre 18 y tubos de vacío con anticoagulante (Vacutainer, BD Biosciences, EE. UU.). Las muestras se homogeneizaron invirtiendo los tubos inmediatamente después de su colecta y posteriormente se mantuvieron en posición vertical en una hielera. En un plazo menor a 8 horas después de la colecta, se realizaron dos frotis sanguíneos por muestra de sangre y se fijaron en metanol al 90% durante 10 minutos. Las muestras se tiñeron utilizando hemocolorante rápido.

3.4.1. Conteos celulares

Utilizando el microscopio óptico, en la monocapa de cada frotis sanguíneo se contabilizaron todas las células rojas (normales o atípicas) que se encontraron en 10 campos a 100x. Las morfologías atípicas que se tomaron en cuenta fueron: equinocitos, acantocitos, codocitos, esquistocitos, microcitos, queratocitos, dacriocitos, esferocitos, macrocitos, eliptocitos, excentrocitos, así como hipocromía y policromasia. Los valores obtenidos se dividieron entre 10 para calcular la proporción que representa cada tipo celular.

Para los leucocitos se realizó un conteo a 100x hasta alcanzar 100 células por frotis sanguíneo. Los tipos celulares que se tomaron en cuenta fueron: linfocitos, neutrófilos en banda, neutrófilos segmentados, neutrófilos hipersegmentados, basófilos o eosinófilos. Para obtener el estimado de conteo de leucocitos, se contabilizaron todas las células blancas que se encontraron en 3 campos a 10x y se calculó un promedio. Se obtuvo el conteo de leucocitos de cada frotis sanguíneo, mediante el siguiente cálculo:

$$(\text{Promedio}) \times (0.36) \times (1,000) = \text{Estimado de conteo de leucocitos}$$

A partir del estimado de cada frotis sanguíneo, se calculó la proporción que representa cada tipo celular, tomando en cuenta que el estimado equivale al 100%. A partir de los valores finales, se determinó si los conteos se encontraban dentro del rango normal, utilizando como referencia los valores de las crías que nacieron en un año con condiciones climáticas normales (2012). Tomando en cuenta los datos de todos los años, se obtuvieron conteos de eritrocitos en 214 individuos y de linfocitos en 469 crías.

3.5 RESULTADOS

3.5.1. Células sanguíneas: Leucocitos

No se encontró una relación entre la anomalía en la TSM y la presencia de neutrófilos hipersegmentados, a pesar de que se encontraron 77 casos con conteos por encima del intervalo normal. Se encontraron dos casos de neutropenia (conteo de neutrófilos por debajo de lo normal) y no se encontró ningún caso de linfopenia (conteo de linfocitos por debajo de lo normal).

3.5.1.1. Linfocitosis

Se encontraron 146 individuos con linfocitosis. Conforme incrementaron las anomalías en la TSM a mediados y finales del embarazo, también aumentaron los casos de crías con linfocitosis (Cuadro 18; fig. 14). La anomalía en la TSM a inicios del embarazo y durante el periodo de muestreo no tuvo un efecto.

Cuadro 18. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la linfocitosis de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Linfocitosis ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados del embarazo)	0.6506	1	555.24	3.991 ⁻⁰⁷ ***
Modelo 2. Linfocitosis ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final del embarazo)	0.3897	1	572.55	0.003776 **

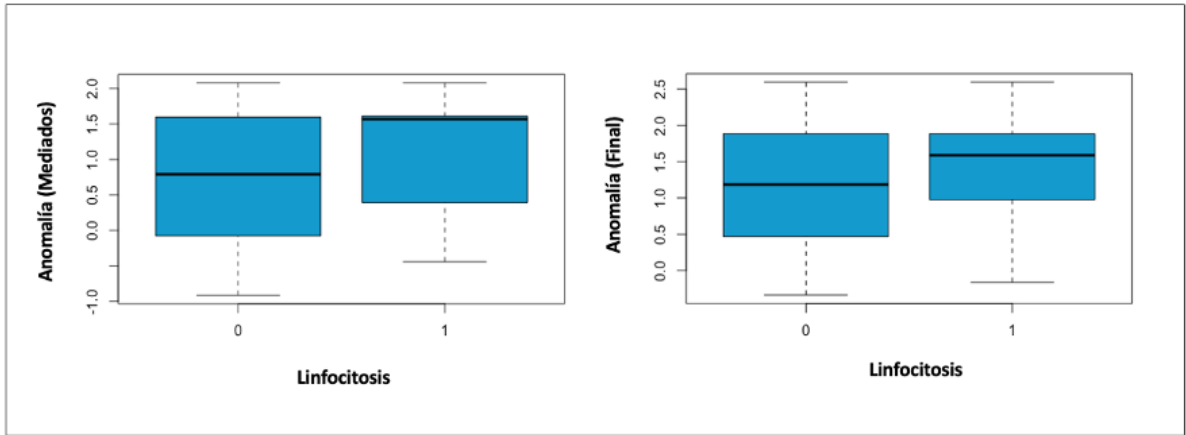


Fig. 14. Comparación de los casos de linfocitosis respecto a las anomalías de la TSM a mediados y finales del embarazo. 0= Ausencia de linfocitosis, 1=Presencia de linfocitosis.

3.5.1.2. Monocitosis

Se encontraron 52 individuos con monocitosis. Conforme incrementaron las anomalías en la TSM a finales del embarazo y en el periodo de muestreos, aumentaron los casos de crías con monocitosis (Cuadro 19; fig. 15). La anomalía en la TSM a inicios y mediados del embarazo no tuvo un efecto.

Cuadro 19. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la monocitosis de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Monocitosis ~ Anomalia (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalia (Final del embarazo)	0.5007	1	320.34	0.01302 *

Modelo 2. Monocitosis ~ Anomalía (Junio-Julio)

Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Periodo de muestreo)	0.4157	1	322.16	0.03711 *

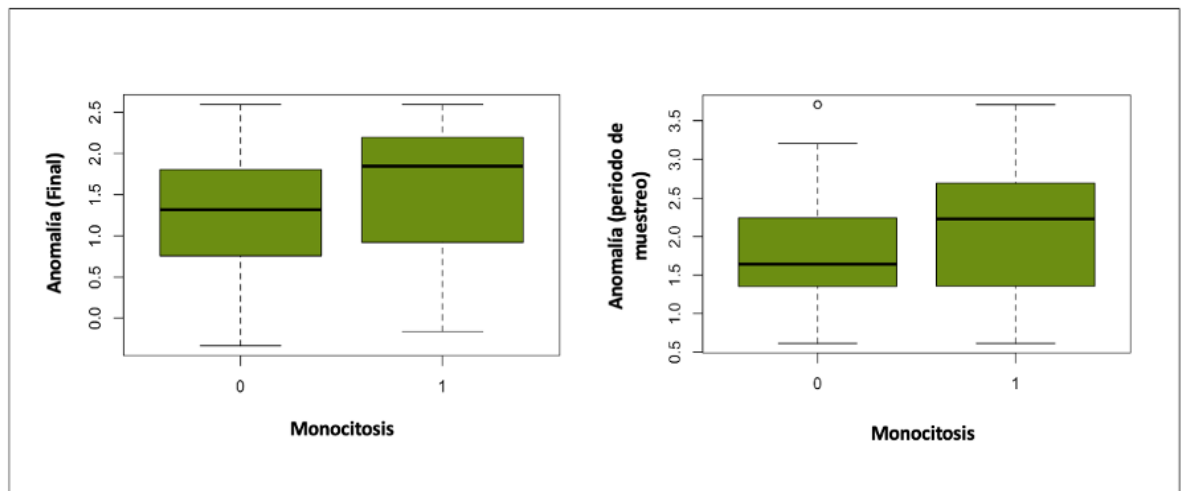


Fig. 15. Comparación de los casos de monocitosis respecto a las anomalías de la TSM a finales del embarazo y durante el periodo de muestreo. 0= Ausencia de monocitosis, 1=Presencia de monocitosis.

3.5.1.3. Eosinofilia

Se encontraron 159 crías con eosinofilia. Cuando incrementó la anomalía durante los tres periodos del embarazo también aumentaron los casos de eosinofilia (Cuadro 20; fig. 16). La anomalía durante el periodo de muestreo no tuvo un efecto.

Cuadro 20. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la eosinofilia de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Eosinofilia ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio del embarazo)	0.3479	1	587.82	0.0005222 ***
Modelo 2. Eosinofilia ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados del embarazo)	0.6148	1	575.45	7.834 ⁻⁰⁷ ***
Modelo 3. Eosinofilia ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final del embarazo)	0.3482	1	592.80	0.007928 **

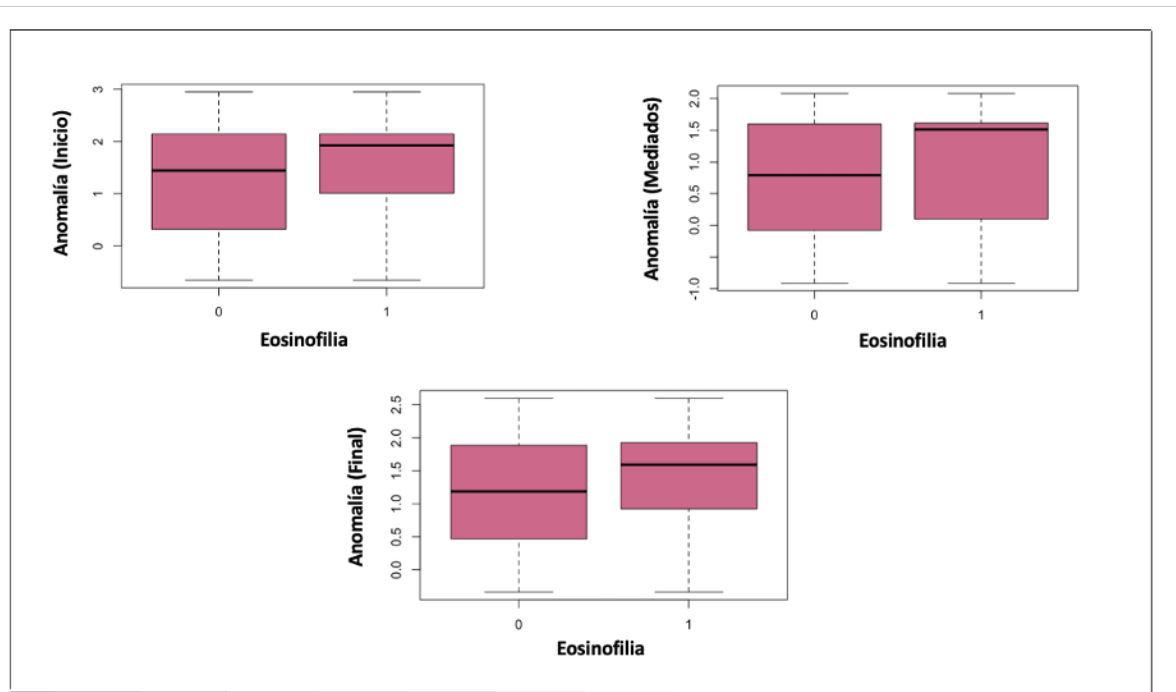


Fig. 16. Comparación de los casos de eosinofilia respecto a las anomalías de la TSM a inicios, mediados y finales del embarazo. 0= Ausencia de eosinofilia 1=Presencia de eosinofilia.

Se encontraron múltiples diferencias significativas entre colonias/años (Cuadro 21; fig. 17). Los conteos más elevados de eosinófilos se encontraron en Granito, Machos, Coloradito, San Esteban, Partido, Nolasco y Cantiles durante 2016; no hubo diferencias entre estas colonias durante 2016.

Cuadro 21. Media y desviación estándar de los conteos de eosinófilos de las crías de *Z. californianus* por colonia/año. Las letras iguales representan las diferencias significativas encontradas. BE=Archipiélago de San Benito, CA=Cantiles, CO=Coloradito, FSI=Farallón San Ignacio, GR=Granito, IS=Islotes, MA=Machos, PA=Partido, RA=Rasito, RC=Rocas Consag, SE=San Esteban, SJ=San Jorge, SPM=San Pedro Martir, SPN=San Pedro Nolasco.

Eosinófilos				
Colonia/Año	Media	SD	Colonia/Año	SD
BE14	821 (a, b)	663	MA16	2073 (b, e, h, n, p, s, bb, dd, ee)
BE15	839 (c, d, e)	771	PA13	511 (u, bb, cc)
CA13	788 (f)	452	PA16	1644
CA16	1494	1555	RA16	1171
CA20	1067	744	RC13	651 (v)
CO13	591 (g, h)	478	RC16	435 (k, w, cc, ff)
CO16	1888 (c, i, j, k, l)	1326	RC20	732
FSI16	684 (m, n)	923	SE16	1692 (q, t, ff)
GR12	620 (i, o, p, q)	518	SE20	565 (l, x, dd)
GR13	657 (j, r, s, t)	464	SJ16	978 (y)
GR16	2179 (a, d, f, g, m, o, r, u, v, w, x, y, z, aa)	1249	SJ20	582 (z, ee)
IS14	1396	1068	SMP16	1349
IS16	975	537	SPN20	849 (aa)
IS20	1005	570	SPN16	1593

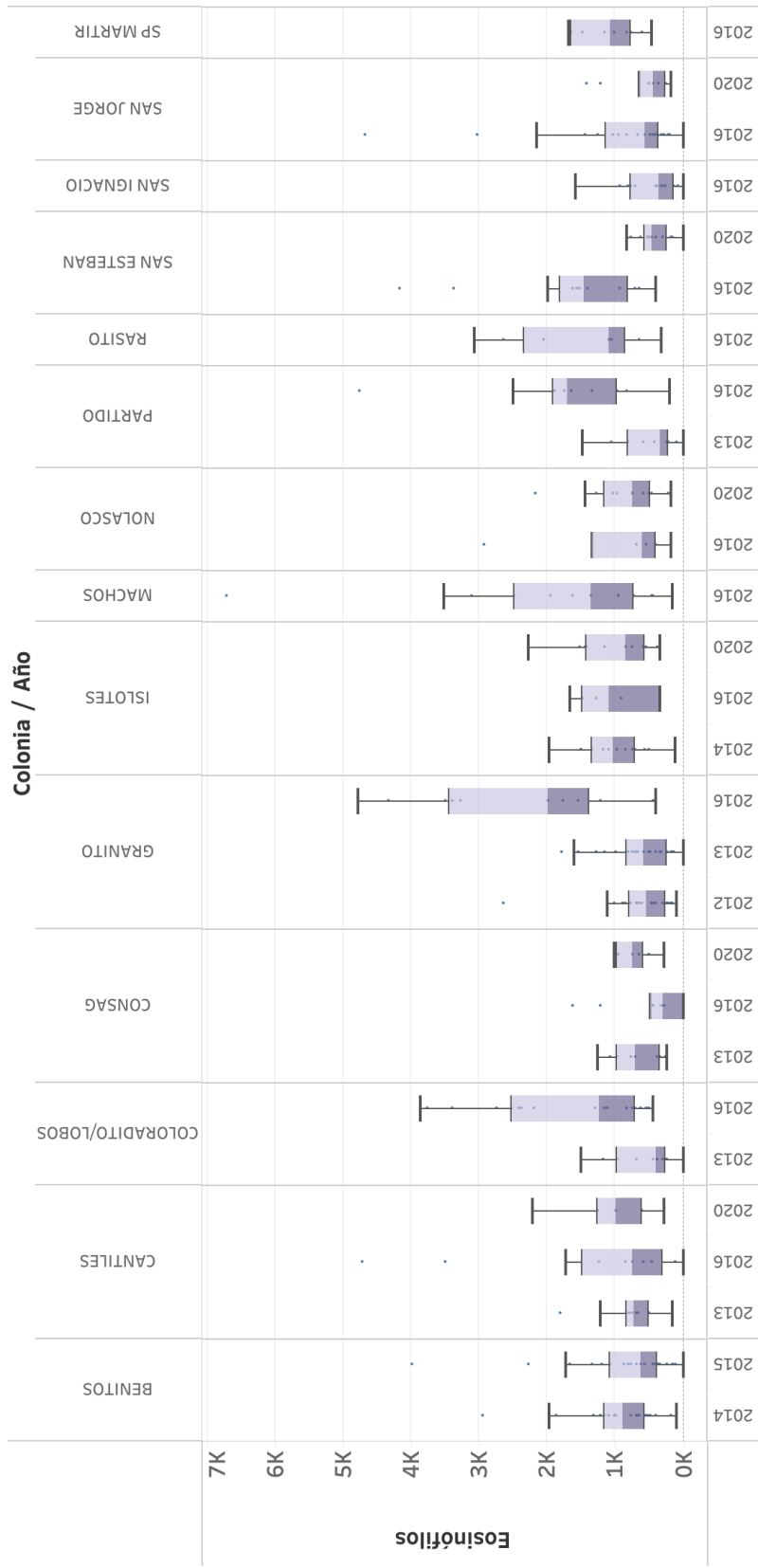


Fig. 17. Comparación de los conteos de eosinófilos de acuerdo a la colonia reproductiva y el año de muestreo.

3.5.1.4. Basofilia

Se encontraron 11 crías con basofilia. Cuando incrementó la anomalía en la TSM a mediados y finales del embarazo, aumentaron los casos de crías con conteos de basófilos dentro del intervalo normal (Cuadro 22; fig. 18).

Cuadro 22. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la basofilia de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Basofilia ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	-0.9823	1	97.566	0.009717 **

Modelo 2. Basofilia ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	-0.9576	1	98.809	0.01965 *

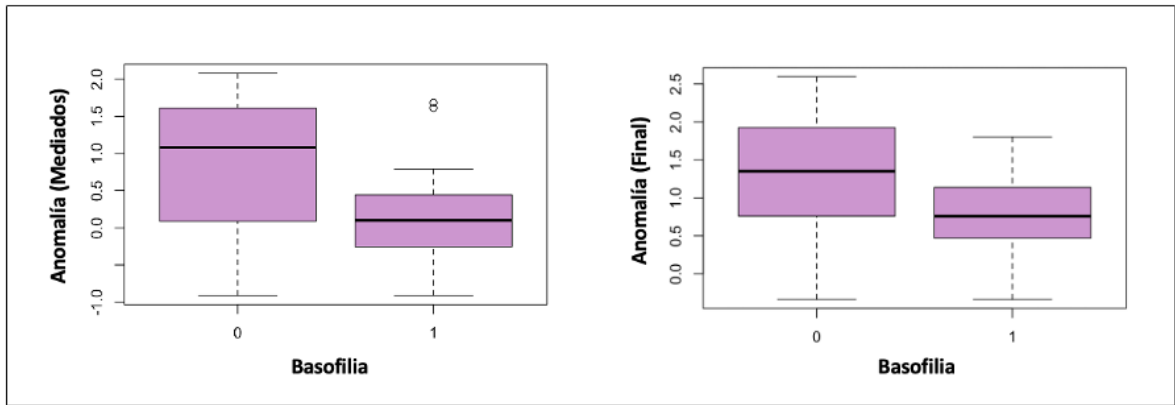


Fig. 18. Comparación de los casos de basofilia respecto a las anomalías de la TSM a mediados y finales del embarazo. 0=Ausencia de basofilia 1=Presencia de basofilia.

3.5.1.5. Neutrófilos en banda

Se encontraron 114 crías con un conteo de neutrófilos en banda por encima del rango normal. La anomalía a inicios y mediados del embarazo tuvieron una asociación positiva, es decir, cuando aumentó la temperatura incrementaron los casos de crías con bandas. Lo contrario ocurrió en el periodo de muestreo, ya que conforme aumentaron las anomalías disminuyeron los casos de crías con neutrófilos en banda (Cuadro 23; fig. 19).

Cuadro 23. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los conteos de neutrófilos en banda de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Neutrofilia (bandas) ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio)	0.2435	1	514.75	0.02684 *
Modelo 2. Neutrofilia (bandas) ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	0.3902	1	511.35	0.003955 **
Modelo 3. Neutrofilia (bandas) ~ Anomalía (Junio-Julio)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Periodo de muestreo)	-0.5492	1	507.39	0.0004622 ***

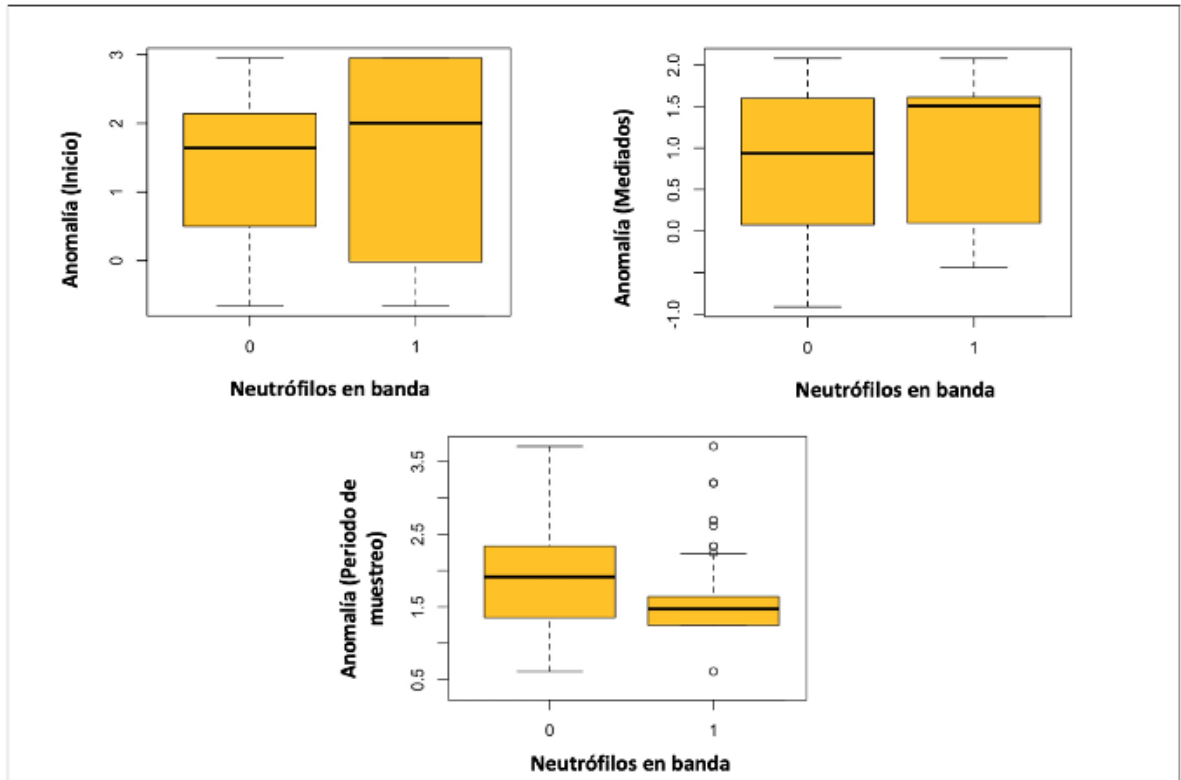


Fig. 19. Comparación de los conteos de neutrófilos en banda respecto a las anomalías de la TSM en el embarazo y el periodo de muestreo. 0= Conteo de neutrófilos en banda dentro del rango normal, 1= Conteo de neutrófilos en banda por encima del rango normal.

3.5.1.6. Neutrofilia

Se encontraron 263 crías con neutrofilia total. El aumento en la anomalía durante los tres periodos del embarazo provocó el aumento de los casos de crías con neutrofilia (Cuadro 24; fig.20).

Cuadro 24. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en la neutrofilia de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Neutrofilia (total) ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio)	0.29789	1	631.49	0.001489 **
Modelo 2. Neutrofilia (total) ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	0.6434	1	610.65	2.673 ⁻⁰⁸ ***
Modelo 3. Neutrofilia (total) ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	0.4790	1	626.96	0.0001314 ***

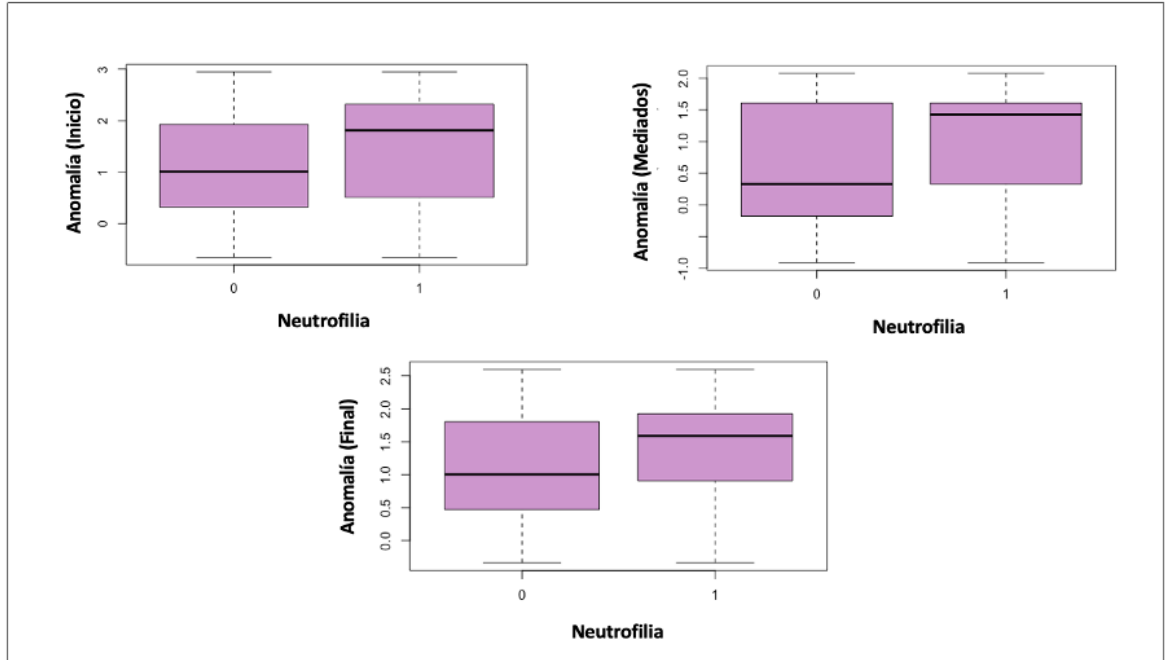


Fig. 20. Comparación de los casos de neutrofilia total respecto a las anomalías de la TSM a inicios, mediados y finales del embarazo.

3.5.2. Células sanguíneas: Eritrocitos

La anomalía en la TSM durante el embarazo y en el periodo de muestreo, no explicó la presencia de equinocitos, queratocitos y dacriocitos, así como la hipocromía y policromasia (GLM; $p > 0.05$ en todos los casos). En el caso de las demás morfologías atípicas, el efecto de la TSM difirió dependiendo del periodo del embarazo (Cuadro 25).

Cuadro 25. Resumen del efecto de las anomalías en la TSM en las morfologías atípicas de eritrocitos de las crías de *Z. californianus* de acuerdo al periodo del embarazo.

Relación positiva				Relación negativa		
Inicio del embarazo	Mediados del embarazo	Final del embarazo	Nacimiento	Inicio del embarazo	Mediados del embarazo	Final del embarazo
Acantocitos	/	/	Acantocitos	/	/	/
Esfercitos	Esfercitos	Esfercitos	/	/	/	/
Excentrocitos	/	/	Excentrocitos	/	Excentrocitos	/
/	Microcitos	Microcitos		Microcitos	/	/
/	/	Eliptocitos	Eliptocitos	/	/	/
/	/	Esquistocitos	Esquistocitos	/	/	/
/	/	/	/	/	Codocitos	Codocitos
/	/	/	/	/	Macroscitos	/

3.5.2.1. Acantocitos

La presencia de acantocitos fue explicada por la anomalía en la TSM a inicios del embarazo y durante el periodo de muestreo; cuando aumentan las anomalías en la temperatura incrementa la cantidad de acantocitos (Cuadro 26).

Cuadro 26. Modelo lineal generalizado construido para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los acantocitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Acantocitos ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio)	1.3776	1	28.971	4.708 ⁻⁰⁷ ***
Modelo 2. Acantocitos ~ Anomalía (Junio-Julio)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Periodo de muestreo)	1.240	1	33.595	0.03075 *

3.5.2.2. Esquistocitos

El aumento en anomalía a finales del embarazo y durante el periodo de muestreo provoca un incremento en los esquistocitos (Cuadro 27).

Cuadro 27. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los esquistocitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Esquistocitos ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	0.9120	1	24.540	8.781 ⁻⁰⁸ ***

Modelo 2. Esquistocitos ~ Anomalía (Junio-Julio)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Periodo de muestreo)	0.9625	1	27.491	0.0003329 ***

3.5.2.3. Microcitos

La anomalía durante los tres periodos del embarazo tuvo relación con los microcitos. El aumento en la anomalía a inicios del embarazo provoca una disminución en los microcitos, no obstante, el aumento en la anomalía a mediados y finales del embarazo incrementa la presencia de microcitos (Cuadro 28).

Cuadro 28. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los microcitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Microcitos ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio)	-0.5050	1	26.890	0.03713 *
Modelo 2. Microcitos ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	0.8495	1	25.311	0.0006323 ***
Modelo 3. Microcitos ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	0.4032	1	26.540	0.01363 *

3.5.2.4. Esferocitos

El aumento en la anomalía de los tres periodos del embarazo, provoca un incremento en la cantidad de esferocitos (Cuadro 29).

Cuadro 29. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los esferocitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Esferocitos ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio)	0.5616	1	49.766	0.01372 *
Modelo 2. Esferocitos ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	0.7522	1	50.661	0.02679 *
Modelo 3. Esferocitos ~ Anomalía (Junio-Julio)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	0.6064	1	48.380	0.00129 **

3.5.2.5. Eliptocitos

El aumento de la anomalía a final del embarazo y durante la temporada de muestreo provoca el incremento de los eliptocitos (Cuadro 30).

Cuadro 30. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los eliptocitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Eliptocitos ~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	0.6504	1	37.911	0.01488 *

Modelo 2. Eliptocitos ~ Anomalía (Junio-Julio)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Periodo de muestreo)	0.8750	1	36.465	0.005376 **

3.5.2.6. Excentrocitos

La anomalía al inicio del embarazo y durante el periodo de muestreo provocan el incremento de excentrocitos. El aumento en la anomalía a mediados del embarazo provoca la disminución de esta morfología atípica (Cuadro 31).

Cuadro 31. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los excentrocitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Excentrocitos ~ Anomalía (Septiembre-Noviembre)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Inicio)	0.7302	1	31.099	0.03551 *
Modelo 2. Excentrocitos ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	-1.7029	1	30.996	0.03267 *
Modelo 3. Excentrocitos ~ Anomalía (Junio-Julio)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Periodo de muestreo)	1.5459	1	27.659	0.0001715 ***

3.5.2.7. Codocitos

El aumento en la anomalía a mediados y finales del embarazo, provoca la disminución de codocitos (Cuadro 32).

Cuadro 32. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los codocitos de las crías de *Z. californianus*.

Modelo 1. Codocitos ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	-2.4178	1	29.199	2.671 ⁻⁰⁵ ***

Modelo 2. Codocitos~ Anomalía (Abril-Mayo)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Final)	-0.8735	1	33.039	0.009634 **

3.5.2.8. Macroцитos

El aumento en la anomalía a mediados del embarazo provoca la disminución de los macrocitos (Cuadro 33).

Cuadro 33. Modelos lineales generalizados construidos para explorar el efecto de las anomalías en la TSM en los macrocitos.

Modelo 1. Macroцитos ~ Anomalía (Enero-Febrero)				
Término	Estimado	Df	Resid. Dev	P
Anomalía (Mediados)	-0.9973	1	23.575	0.02824 *

3.6 DISCUSIÓN

La primera predicción de este capítulo fue que el aumento en las anomalías en la temperatura superficial del mar incrementarían las alteraciones en los conteos de leucocitos. Esta hipótesis se cumplió en el caso de la linfocitosis, monocitosis, eosinofilia y neutrofilia, ya que incrementaron los casos conforme aumentó la temperatura en diferentes periodos del embarazo. La TSM al final del desarrollo (mayo-junio) afectó a todos estos tipos celulares.

Las actividades humanas han provocado el aumento de la temperatura del océano, así como su acidificación, eutroficación, contaminación y otros fenómenos. Aunque resulta complicado realizar predicciones sobre el comportamiento de los patógenos ante estos cambios, se cree que podrían potenciar su desarrollo y supervivencia, su capacidad para transmitir enfermedad o afectar la susceptibilidad de los huéspedes (Marcogliese, 2001; Harvell, 2002). De esta manera, el aumento en la TSM podría incrementar la susceptibilidad de las madres y crías de lobo marino a contraer enfermedades provocadas por patógenos que ya se han identificado en el Golfo de California (*Salmonella*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, entre otros) (Zavala-Norzagaray *et al.*, 2022).

Conteos elevados de neutrófilos y linfocitos se han observado en *Zalophus californianus* y crías de lobo fino con infecciones parasitarias (Roletto, 1993; Seguel *et al.*, 2018). La monocitosis podría indicar una infección bacteriana, estrés e inflamación aguda y crónica (Carrick y Begg, 2008). Por otro lado, la edad de las crías también debe tomarse en cuenta dado que la cantidad de leucocitos puede aumentar o disminuir en los siguientes días al nacimiento. Por ejemplo, las crías de lobo fino (*A. australis*) nacen con bajos números de ciertos leucocitos y estos aumentan conforme pasan los días; en el lobo marino de Steller (*E. jubatus*), las crías nacen con números elevados de leucocitos y neutrófilos y éstos disminuyen al crecer, mientras que los linfocitos, eosinófilos y monocitos se mantienen constantes

(Keogh *et al.*, 2010). En el caso del lobo marino de Galápagos (*Z. wolfebaeki*) las crías también nacen con altas cantidades de leucocitos, eosinófilos y neutrófilos, pero también disminuyen con el paso de los días (Brock *et al.*, 2013).

El aumento en la eosinofilia ya se había observado previamente en crías de lobo marino que nacieron en el Archipiélago San Benito en años con anomalías climáticas (2014 y 2015) (Banuet-Martínez *et al.*, 2017). Esto podría indicar una mayor exposición a parásitos durante los años calientes (Pickles *et al.*, 2013) e incluso una exposición a ácido domoico a través de la leche materna (Gulland *et al.*, 2002). Sumado a esto, se encontró que los conteos más elevados de eosinófilos se presentaron en diversas colonias del Golfo de California durante 2016, que fue el año con la mayor anomalía climática encontrada en este trabajo. Lyons y colaboradores (2016), encontraron larvas de vida libre de *Uncinaria* spp. en muestras de arena, donde aparentemente estos individuos logran sobrevivir. En este caso, Granito (2016) que es una colonia con sustrato arenoso, tuvo la media más alta de eosinófilos. Las crías de Coloradito, Cantiles y Partido también tuvieron la mayor media de eosinófilos en 2016. Estas colonias se encuentran dentro de un rango de 100km a la redonda de Granito, por lo que no podría descartarse que algunas hembras pudieran contagiarse y transmitir el parásito a las crías. Por otro lado, a pesar de que los conteos más elevados se encontraron en Granito (2016), no se encontraron diferencias significativas respecto a colonias más alejadas como Islotes, Machos, Rasito, San Esteban, S. P. Mártir y S. P. Nolasco (2016 en todos los casos).

Previamente se ha determinado una disminución de basófilos en crías de *Zalophus californianus* y *Arctocephalus australis* que nacieron en años con anomalías climáticas (Banuet-Martínez *et al.* 2017; Seguel *et al.*, 2018). Esto concuerda con los resultados obtenidos en este capítulo, ya que se observó una reducción en los basófilos tras el incremento de las anomalías en la TSM, lo cual podría estar relacionado con estrés e inmunosupresión (Jeklova *et al.*, 2008). En crías de

A. australis que sobrevivieron a una infección parasitaria se han encontrado cantidades elevadas de basófilos en diferentes fases de la infección; lo contrario se observó en crías que murieron por la infección, dado que los conteos de basófilos fueron bajos (Seguel *et al.*, 2018).

Los neutrófilos en banda tuvieron un efecto diferente dependiendo de la época del embarazo; al inicio y mediados del desarrollo se observa una correlación positiva, donde el incremento en la TSM aumentaría los conteos. Los neutrófilos en banda son enviados al torrente sanguíneo cuando las reservas de neutrófilos maduros no son suficientes para combatir una infección. Esto habla de una médula ósea que puede responder eficazmente ante estos estímulos, por lo que un conteo bajo de neutrófilos en banda se considera una respuesta normal a la inflamación. No obstante, el aumento en la temperatura a final del embarazo disminuyó los neutrófilos en banda, lo cual podría significar dos cosas: 1) que la médula ósea cuenta con las reservas necesarias de neutrófilos maduros para combatir infecciones o 2) que el incremento en la TSM disminuye la capacidad de la médula ósea para cumplir la demanda de neutrófilos (Valenciano *et al.*, 2014).

3.6.1. Eritrocitos

La segunda predicción de este capítulo, fue que el incremento en las anomalías en la TSM aumentaría las morfologías atípicas de eritrocitos. Los resultados mostraron que las relaciones difieren dependiendo del tipo celular y los periodos del embarazo, no obstante, dado que las células rojas circulan durante 70 días en el torrente sanguíneo de neonatos (Pearson,1967), es importante considerar que las anomalías en la TSM a finales del embarazo o en el momento de muestreo serán las que mayor impacto tengan en los conteos de estos tipos celulares.

Los acantocitos, esferocitos, eliptocitos, excentrocitos, microcitos y esquistocitos incrementaron conforme aumentó la TSM a final del embarazo (mayo-junio) o en el periodo de nacimiento (junio-julio). Los acantocitos, esferocitos y eliptocitos ya

habían sido observados en mayores cantidades en crías de lobo marino que nacieron en el Archipiélago San Benito en años anómalos (2014 y 2015) (Flores-Morán *et al.*, 2017).

Los microcitos, esquistocitos y eliptocitos pueden ser provocados por una deficiencia de hierro, la cual es necesaria para sintetizar los grupos hemo que conforman a la hemoglobina (Koury y Ponka, 2004; Nagababu *et al.*, 2008). Los acantocitos, por su parte, son células que pueden incrementar debido al desbalance entre colesterol-lípidos, así como una deficiencia de vitamina E (Cochran-Black, 2015; Manchanda, 2015; Turgeon, 1999; Harmening, 2009; Palmer *et al.*, 2015). La cantidad y tipo de lípidos consumidos en la dieta determinan la morfología de la membrana de las células y su composición lipídica (Christopher, 2004), por lo que una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados mejora las propiedades membranales y aumenta la capacidad de deformabilidad (de regresar a su forma normal después de pasar por el torrente sanguíneo) (Hessel *et al.*, 1990). La leche de los mamíferos marinos presenta una gran cantidad de lípidos poliinsaturados de cadena larga (como Omega 3 y 6), así como magnesio, hierro, zinc y selenio. En la leche de cetáceos también se ha encontrado vitamina A, tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, ácido pantoténico, biotina, vitamina B12, vitamina E e incluso vitamina C (Oftedal, 2011). En aquellas temporadas donde el alimento disponible es abundante, la leche que producen las hembras lactantes será de mayor calidad, pero en años con anomalías climáticas cuando se consumen presas con una menor cantidad de ácidos grasos y nutrientes en general, es muy posible que también se modifique la calidad de leche que consume la cría, generando defectos en la membrana celular de algunos eritrocitos. También se ha propuesto que los cambios en las presas pueden modificar otros parámetros eritrocitarios (Thompson *et al.*, 1997).

Por otro lado, la falta de alimento y los ayunos prolongados en años con anomalías climáticas también podría ser un factor importante. Los esferocitos pueden ser

provocados por la destrucción parcial de su membrana e incluso por toxinas de bacterias (Bain, 2006); la falta de fósforo en el organismo también puede ser una causa (Byers, 2016; Gallagher, 2012) y esto a su vez, puede ser provocado por una baja ingesta de este nutriente, así como por ayunos prolongados e hipotermia (Armitage-Chan *et al.*, 2016). Los excentrocitos, son eritrocitos dañados por el estrés oxidativo, el cual se ha visto que es mayor en humanos recién nacidos prematuros (Collard *et al.*, 2004). El estrés oxidativo también puede incrementar debido a la desnutrición y carencia de hierro (Nagababu *et al.*, 2008) e incluso algunas especies pueden tener una mayor predisposición natural a este tipo de daño (Snow., 1962; Byers, 2016). Algunas vitaminas como la E, permiten reducir la susceptibilidad al estrés oxidativo en las células, por lo que su consumo y mantenimiento de niveles adecuados también es indispensable para las membranas de los eritrocitos (Tesoriere *et al.*, 1995; Tesoriere L, 1996; Benítez, 2006).

Los codocitos y macrocitos son las únicas células que sólo tuvieron una relación negativa con la temperatura, ya que a mayor TSM menores conteos. Los macrocitos únicamente tuvieron efecto de la TSM a mediados del embarazo, por lo que es poco probable que dichos efectos se presentaran en los frotis sanguíneos (debido al corto tiempo que transcurren estas células en el torrente sanguíneo). En el caso de los codocitos, estos ya habían sido observados en mayor cantidad en un año con temperaturas normales (2012) respecto a años con anomalías climáticas (Flores-Morán *et al.*, 2017). Además, es importante considerar que este hematíe se considera un artefacto, por lo que a mayor humedad en el ambiente mayor es la probabilidad de que se encuentren estas morfologías en los frotis sanguíneos (Landis-Piwowar *et al.*, 2015).

VII. DISCUSIÓN GENERAL

En este capítulo se estudiaron los efectos de las anomalías en la TSM sobre diversos parámetros clínico-fisiológicos de crías de lobo marino de California. Se encontró que algunos parámetros son sensibles a las variaciones climáticas.

Los efectos del aumento de la temperatura del mar son diversos, dado que pueden cambiar el flujo de nutrientes y clorofila, afectando la distribución de zooplancton y peces (Beaugrand, 2003; Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016). Sumado a esto, el calentamiento del océano y los ecosistemas, puede hacer más propensos a los animales a adquirir enfermedades (Marcogliese, 2001, 2008). En el caso del lobo marino de California, los eventos de calentamiento han provocado una disminución en su inmunocompetencia (Banuet-Martínez *et al.*, 2017), incrementos en las morfologías atípicas de eritrocitos (Flores-Morán *et al.*, 2017) y menores tasas de supervivencia de las crías (Trillmich y Limberger, 1985).

De acuerdo con el presente estudio, la condición corporal, la glucosa, la inhibición bacteriana y diversas células son afectadas por el incremento en las anomalías en la temperatura superficial del mar. Tomando en cuenta estos resultados y la teoría de “Trade offs”, si un individuo nace en un ambiente con una gran cantidad de patógenos, tendrá que invertir más en sus defensas. Además, en entornos con pocos recursos, la mayor parte de la energía será utilizada para asegurar el mantenimiento del sistema inmune, por lo que se tendrá menos energía para otros fines como el crecimiento (Rauw, 2012). La disminución que observamos en la condición corporal posiblemente se deba a todos los canjes energéticos que se presentan cuando se incrementa la TSM. Los leucocitos (linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, monocitos) mostraron un incremento ante la TSM, lo que puede indicar una mayor susceptibilidad tanto en la madre y la cría a desarrollar más enfermedades (bacterianas, virales o parasitarias) en años anómalos (Marcogliese, 2001; Harvell, 2002; Pickles *et al.*, 2013). Utilizar una mayor energía para combatir una enfermedad puede disminuir el crecimiento de las crías (Rauw., 2012). Sumado

a esto, la menor calidad de la leche, la pérdida de mayores reservas corporales conforme aumentan los días de ayuno, así como las demandas naturales del organismo (termorregulación y supervivencia) pueden afectar aún más la tasa de crecimiento (Harcourt, 1992; Rea *et al.*, 2000; Oftedal *et al.*, 1987).

El incremento en la glucosa tras el aumento en la TSM, podría indicar que los ayunos están incrementando en las crías, dado que en diversos mamíferos marinos se han registrado modificaciones en su metabolismo derivado de la falta de alimento. No obstante, es necesario considerar que la glucosa es una molécula que puede modificarse fácilmente, incluso por estrés y excitación (Kuo *et al.*, 2015; Andrews y Walker, 1999; Venn-Watson *et al.*, 2011; Houser *et al.*, 2012; Houser *et al.*, 2021; Crocker *et al.*, 2014). Además, ya que la glucosa durante los ayunos se obtiene principalmente a partir de la oxidación de ácidos grasos, es probable que las crías que no cuentan con tantas reservas agoten fácilmente sus ácidos grasos y lípidos (Rea 1995; Le Maho *et al.*, 1988), derivando en una disminución drástica de glucosa.

La mayoría de las morfologías atípicas de eritrocitos asociadas a la alimentación aumentaron conforme incrementó la TSM. Esto podría ser un efecto de la modificación de las presas disponibles para las madres lactantes cuando incrementa la temperatura, así como la disminución en la cantidad de leche que recibieron las crías (Trillmich *et al.*, 1991; Elorriaga-Verplancken *et al.*, 2016). La alimentación juega un papel fundamental en la formación de la membrana de los eritrocitos, siendo los ácidos grasos, el hierro, la vitamina E y otros nutrientes, indispensables para mantener la deformabilidad de la membrana celular y permitir que recuperen su forma normal después de pasar por el torrente sanguíneo (Koury y Ponka, 2004; Nagababu *et al.*, 2008; Christopher, 2004; Thompson *et al.*, 1997; Hessel *et al.*, 1990). Si las propiedades de la membrana son modificadas, la célula puede sufrir cambios irreversibles, razón por la que se observaron mayores cantidades de morfologías atípicas conforme incrementó la temperatura.

Los péptidos antimicrobianos y los componentes del complemento se producen desde el desarrollo embrionario, por lo que es normal que haya un incremento durante el embarazo (Kohler, 1973; Gitlin y Biasucci, 1969; Feng *et al.*, 2003; King *et al.*, 2007; Yoshio *et al.*, 2003). Al nacer, la cría tendrá que desarrollar sistemas de defensa más complejos (Kai-Larsen *et al.*, 2014) por lo que recibir constantemente leche de las madres les dará una cantidad adecuada de estas moléculas. Un ejemplo de esto son las lisozimas, que son indispensables para eliminar bacterias gram negativas como *E. coli* (Woodward y Draper, 2001). No obstante, ya se ha visto que en años con anomalías climáticas, la lactancia disminuye y se afecta la capacidad de las crías para montar respuestas inmunes (Banuet-Martínez *et al.*, 2017; Seguel *et al.*, 2018). Es probable que por estas razones hayamos observado que la capacidad para inhibir a *E. coli* fue mayor conforme incrementó la condición corporal y disminuyó cuando incrementaron las temperaturas.

Las poblaciones del lobo marino de California en México han disminuido un 65.2% en los últimos años debido al incremento de las temperaturas, por lo que es necesario conocer los factores que podrían estar ocasionando esto. Pelayo-González y colaboradores (2021) determinaron que el incremento mayor a 1°C puede disminuir el número de nacimientos en el norte y centro del Golfo de California. El cambio en las presas principales también ha sido considerado uno de las causas de muerte y disminución de nacimientos, por ejemplo, en el centro del Golfo se han observado relaciones entre el aumento en la pesca de sardina y la producción de crías (Pelayo-González *et al.*, 2021). No obstante, el lobo marino de California es un especialista plástico que puede alimentarse de diversas presas, su alimento se modifica dependiendo de la región en que habitan, y sumado a esto, los registros de peces consumidos por año y colonia reproductiva no mantienen un seguimiento, por lo que resulta sumamente complicado comparar las presas que se consumían antes y después de las modificaciones climáticas. El aumento en la susceptibilidad a enfermedades también ha sido considerado un factor de riesgo (Zavala-Norzagaray *et al.*, 2022) y concuerda con el incremento en los conteos de

células blancas que observamos en este trabajo. La disminución en la condición corporal de las crías también es un factor sumamente importante, ya que forma parte de la historia de vida de la especie y puede comprometer la supervivencia de las crías hasta la etapa juvenil e incluso afectar la reproducción a largo plazo.

VIII. CONCLUSIONES FINALES

- El glucómetro es una herramienta eficaz y con gran exactitud, por lo que es posible utilizarla para la medición de glucosa en fauna silvestre. No obstante, la exactitud podría variar dependiendo de la técnica en que se basa la medición del aparato elegido.
- No se observó una relación entre la concentración de glucosa sérica y la condición corporal de las crías, posiblemente porque la glucosa es modificada mediante mecanismos complejos e incluso en condiciones de ayuno.
- El incremento en la temperatura durante el segundo y tercer trimestre del embarazo puede provocar una disminución en la glucosa sanguínea. En las crías recién nacidas la glucosa incrementa con el aumento en las anomalías en la TSM, lo que puede deberse a modificaciones en su metabolismo derivados de un incremento en los ayunos. Se observaron diferentes patrones en la concentración de glucosa de acuerdo a la región y colonia reproductiva a la que pertenecen las crías, lo que a su vez está relacionado con las condiciones oceanográficas en las zonas de alimentación de las madres.
- La condición corporal de las crías disminuyó conforme aumentaron las anomalías en la TSM, aunque también se observaron diferencias dependiendo de la región y colonia reproductiva en que nacieron las crías. La pérdida de reservas energéticas podría estar relacionada con una menor calidad de la leche producida por las madres, a que las crías pasan ayunos más prolongados, así como al menor tiempo que pasan las hembras en tierra,

que a su vez, incrementa el estrés y la necesidad de termorregulación y supervivencia en los neonatos.

- El aumento en las anomalías en la TSM a inicios y mediados del embarazo pueden incrementar la inhibición sérica de las crías, aunque se sabe que el incremento de los péptidos antimicrobianos y los componentes del complemento es normal durante la gestación.
- El incremento de la TSM disminuye la inhibición sérica en crías ya nacidas. El sistema inmune de un neonato aún no está tan desarrollado y sus demandas energéticas son muy altas, por lo que requiere de una lactancia adecuada para establecer respuestas inmunes. Dado que un ambiente con mayores temperaturas podría reducir los recursos, es muy posible que la capacidad de la madre para cumplir con estas demandas se vea disminuida. No obstante, estas condiciones pueden mejorar o empeorar dependiendo de la temporada, razón por la que la inhibición sérica fue distinta entre los años de estudio (2012-2020).
- El incremento en la condición corporal incrementa la inhibición sérica de las crías. La falta de ciertos nutrientes puede disminuir los componentes del complemento, los péptidos y proteínas antimicrobianas, por lo que las modificaciones en la cantidad, calidad de la leche y las reservas energéticas de las crías juegan un papel fundamental en el sistema inmune del neonato.
- El aumento en las anomalías en la TSM incrementaron los conteos de linfocitos, neutrófilos, monocitos y eosinófilos, lo que podría deberse a un aumento en la susceptibilidad a desarrollar infecciones por parte de las crías en años anómalos. La basofilia disminuyó, probablemente por el efecto del estrés e inmunosupresión. En el caso de los neutrófilos en banda, estos tuvieron un comportamiento distinto dependiendo del periodo del embarazo. No obstante, en crías recién nacidas el incremento de la TSM disminuyó los conteos de este tipo celular, lo que podría atribuirse a una disminución en la capacidad de la médula ósea para enviar más neutrófilos.

- Los acantocitos, esferocitos, eliptocitos, excentrocitos, microcitos y esquistocitos incrementaron tras el aumento de la TSM. Las modificaciones en los ácidos grasos y otros nutrientes debido a la modificación de la dieta en las hembras lactantes podría ser una de las causas. La falta de alimento (por ayunos prolongados) y el estrés oxidativo también pueden modificar la membrana de estas células, provocando algunas de las morfologías atípicas que se encontraron en los frotis sanguíneos. En el caso de los codocitos y macrocitos, estos disminuyeron conforme incrementó la TSM. Los primeros, son células que se forman debido a la humedad en el ambiente, por lo que se consideran artefactos. En el caso de los macrocitos, la temperatura solo tuvo un efecto a mediados del embarazo; dado que estas células transcurren por poco tiempo en el torrente sanguíneo, es poco probable que tal efecto se refleje en los conteos de estos hematíes.
- En este trabajo se ha encontrado evidencia que demuestra el efecto negativo del aumento en la TSM sobre la salud del lobo marino de California y de los posibles canjes energéticos que se presentan bajo estas circunstancias. Dicho efecto se observó en todos los parámetros estudiados: la condición corporal, la concentración sanguínea de glucosa, la inhibición sérica y las morfologías celulares.
- Se comprueba que la TSM podría afectar a las crías incluso desde su desarrollo temprano.
- Se propone que estos parámetros pueden ser indicadores tempranos de cambios ambientales ecosistémicos para el monitoreo oportuno de especies centinelas.
- Los resultados obtenidos son parte de diversos descubrimientos que en su conjunto permitirán conocer el efecto real del impacto ambiental en la salud de esta especie e implementar mejores estrategias para su conservación.

IX. RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo mayores estudios de la cinética de la glucosa, para conocer el comportamiento de esta molécula en distintas etapas del crecimiento de las crías, así como las modificaciones que pueden surgir por estrés, alimentación reciente y ayunos.
- Medir el cortisol y su correlación con la concentración sanguínea de glucosa.
- Analizar las muestras disponibles para investigar los cambios que se han dado en la composición de presas desde 2012-2020, dado que los registros existentes son incompletos.
- Añadir otras posibles variables que pudieran explicar el efecto en los parámetros medidos, tales como la productividad primaria y clorofila en las distintas regiones de estudio.
- Investigar la presencia de larvas de *Uncinaria* spp. en muestras de arena y realizar pruebas serológicas en crías nacidas en Granito y aquellas colonias a menos de 100 km a la redonda.
- Estudiar los cambios en los conteos de leucocitos y eritrocitos en diferentes etapas de vida de las crías.
- Determinar el efecto de la urbanización, la minería y acuacultura en la salud de los individuos que habitan en colonias reproductivas cercanas a estas fuentes.
- Mantener el estudio de estos parámetros en los siguientes años, para determinar si el efecto de las anomalías climáticas continúa afectando a la especie.

X. REFERENCIAS

Acevedo-Whitehouse, K., de la Cueva, H., Gulland, F.M., Aurióles-Gamboa, D., Arellano-Carbajal, F., Suarez-Güemes, F. (2003). Evidence of *Leptospira interrogans* infection in California sea lion pups from the Gulf of California. *Journal of wildlife diseases*, 39(1):145-51. doi: 10.7589/0090-3558-39.1.145.

Adame, K., Elorriaga-Verplancken, F.R., Beier, E., Acevedo-Whitehouse, K., Pardo, M.A. (2020). The demographic decline of a sea lion population followed multi-decadal sea surface warming. *Scientific Reports*, 10(1). doi:10.1038/s41598-020-67534-0.

Adams, S. H. y Costa, D. P. (1993). Water conservation and protein metabolism in northern elephant seal pups during the postweaning fast. *Journal of Comparative Physiology B*, 163(5). doi:10.1007/bf00265640.

Adewoyin, A. S., Adeyemi, O., Davies, N. O., Ogbenna, A. A. (2019). Erythrocyte Morphology and Its Disorders. In (Ed.), *Erythrocyte*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86112>.

Álvarez-Borrego, S. y Lara, J. R. (1991). The physical environment and primary productivity of the Gulf of California. En: Dauphin, J.P., Simoneit, B.R. (Eds.), *The Gulf of California and peninsular province of the Californias*, Memoir (pp. 47: 555–567). American Association of Petroleum Geologists, Tulsa, Oklahoma.

Álvarez-Borrego, S. y Schwartzlose, R. A. (1979). Water masses of the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 6, 43-63. DOI:10.7773/cm.v6i1.350

Álvarez-Borrego, S. (2010). Physical, chemical, and biological oceanography of the Gulf of California. In: Brusca GC (ed.), *The Gulf of California: Biodiversity and Conservation*. University of Arizona Press, Tucson, pp. 24–48.

- Álvarez–Borrego, S. (1983). Gulf of California. In: Ketchum BH (ed.), *Ecosystems of the World*, 26. Estuaries and Enclosed Seas. Elsevier, Amsterdam, pp. 427—449.
- Amaya, D. J., Miller, A. J., Xie, S.P., Kosaka, Y. (2020). Physical drivers of the summer 2019 North Pacific marine heatwave. *Nature Communications*, 11(1). doi:10.1038/s41467-020-15820-w.
- Andrews, R.C. y Walker, B.R. (1999). Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clinical Science*, 96(5), 513–523. doi:10.1042/cs0960513.
- Argote, M. L., Amador, A., Lavín, M. F., Hunter, J. R. (1995). Tidal dissipation and stratification in the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research*, 100(C8), 16103. doi:10.1029/95jc01500,
- Armitage-Chan, E. A., O'Toole, T., Chan, D. L. (2006). Management of prolonged food deprivation, hypothermia, and refeeding syndrome in a cat. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 16(s1), S34–S41. doi:10.1111/j.1476-4431.2006.00132.x
- Armogida, S.A., Yannaras, N.M., Melton, A.L., Srivastava, M.D. (2004). Identification and quantification of innate immune system mediators in human breast milk. *Allergy Asthma Proc*; 25: 297–304.
- Arnould, J.P.Y., Green, J.A., Rawlins, D.R. (2001). Fasting metabolism in Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*) pups. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 129:829–841. DOI: 10.1016/s1095-6433(01)00339-7.
- Arntz, W. , Pearcy, W. G., Trillmich, F. (1991). Biological consequences of the 1982-83 El Niño in the eastern Pacific , Pinnipeds and El Niño responses to environmental stress. *Ecological studies* 88, Springer, Berlin.

Aurioles, D., Sinsel, F., Fox, C., Alvarado, E. y Maravilla, O. (1983). Winter Migration of Subadult Male California Sea Lions (*Zalophus californianus*) in the Southern Part of Baja California. *Journal of Mammalogy*, 64(3), 513–518. doi:10.2307/1380369.

Aurioles-Gamboa, D. y Camacho-Ríos, F. J. (2007). Diet and Feeding Overlap of Two Otariids, *Zalophus californianus* and *Arctocephalus townsendi*: Implications to Survive Environmental Uncertainty. *Aquatic Mammals*, 33(3), 315–326. <https://doi.org/10.1578/AM.33.3.2007.315>.

Aurioles-Gamboa, D., Silverberg, N., Aguirre-Bahena, F. (2017). Possible relation between enrichment of $\delta^{15}\text{N}$ in the top predator *Zalophus californianus* and the expansion of the oxygen minimum zone. *Marine Biology*, 164(8). doi:10.1007/s00227-017-3189-7.

Aurioles-Gamboa, D., García-Rodríguez, F., Ramirez, M., Hernández-Camacho, C. (2003). Interaction between the California sea lion and the artisanal fishery in La Paz Bay, Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas*. 29. 10.7773/cm.v29i3.151.

Avalos-Téllez, R., Ramírez-Pfeiffer, C., Hernández-Castro, R., Díaz-Aparicio, E., Sánchez-Domínguez, C., Zavala-Norzagaray, A., Arellano-Reynoso, B., Suárez-Güemes, F., Aguirre, A.A., Aurioles-Gamboa, D. (2014). Infection of California sea lions (*Zalophus californianus*) with terrestrial *Brucella* spp. *The Veterinary Journal*, 202(1), 198–200. doi:10.1016/j.tvjl.2014.06.021.

Ayensu, W. K., Pucilowski, O., Mason, G. A., Overstreet, D. H., Rezvani, A. H., Janowsky, D. S. (1995). Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiology & Behavior*, 57(1), 165–169. doi:10.1016/0031-9384(94)00204-i.

Bain, B. J. (2006). Blood cell morphology in health and disease. *Dacie and Lewis Practical Haematology*, 79–113. doi:10.1016/b0-44-306660-4/50009-x.

Banuet-Martínez, M., Espinosa-de Aquino, W., Elorriaga-Verplancken, F. R., Flores-Morán, A., García, O. P., Camacho, M., Acevedo-Whitehouse, K. (2017). Climatic anomaly affects the immune competence of California sea lions. *PLOS ONE*, 12(6), e0179359. doi:10.1371/journal.pone.01793.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*;45(4):493-6. PMID: 5325707.

Beaugrand, G. y Philip, C. (2003). Long-term changes in phytoplankton, zooplankton and salmon related to climate. *Global Change Biology*, vol. 9, issue 6, pp. 801-817. DOI: 10.1046/j.1365-2486.2003.00632.x.

Bellavance, M. A. y Rivest, S. (2014). The HPA - Immune Axis and the Immunomodulatory Actions of Glucocorticoids in the Brain. *Frontiers in Immunology*, 5. doi:10.3389/fimmu.2014.00136.

Benítez, D.E. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(2). Recuperado en 18 de octubre de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000200010&lng=es&tlng=es.

Bennett, K. A., Turner, L. M., Millward, S., Moss, S. E. W., Hall, A. J. (2017). Obtaining accurate glucose measurements from wild animals under field conditions: comparing a hand held glucometer with a standard laboratory technique in grey seals. *Conservation Physiology*, 5(1). doi:10.1093/conphys/cox013.

Bhagavan, N. V. y Ha, C.E. (2011). Carbohydrate Metabolism II. *Essentials of Medical Biochemistry*, 151–168. doi:10.1016/b978-0-12-095461-2.00014-x.

Blackburn, S.T. y Loper, D.L. (1992). Maternal, fetal, and neonatal physiology. Philadelphia: W.B. Saunders.

Bogin, B. (1999). Patterns of human growth, 2nd ed. Cambridge, MA: Cambridge University Press.

Bond, N. A., Cronin, M. F., Freeland, H., Mantua, N. (2015). Causes and impacts of the 2014 warm anomaly in the NE Pacific. *Geophys. Res. Lett.* 42, 3414–3420. doi: 10.1002/2015gl063306.

Boness, D.J. y Bowen, W.D. (1996). The evolution of maternal care in pinnipeds. *Bioscience* 46, 645–654. <https://doi.org/10.2307/1312894>.

Boness, D. J., Oftedal, O. T., Ono, K. A. (1991). The effect of El Niño on pup development in the California sea lion (*Zalophus californianus*): I. Early postnatal growth. Pp. 173-179. Trillmich, F. y Ono, K. A. (eds). *Pinnipeds and El Niño: Responses to environmental stress*. Springer-Verlag, Berlin.

Boonstra, R. (2013). Reality as the leading cause of stress: rethinking the impact of chronic stress in nature. *Funct Ecol* 27: 11–23. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12008>.

Bouquegneau, J. M., Pillet, S., Das, K. y Debacker, V. (2002). Heavy metals in marine mammals. *Toxicology of Marine Mammals*. doi:10.1201/9780203165577.ch7.

Boyd, I.L. y McCann, T.S. (1989). Pre-natal investment in reproduction by female Antarctic fur seals. *Behav Ecol Sociobiol*; **24**, 377–385. <https://doi.org/10.1007/BF00293265>.

Brock, P.M., Hall, A.J., Goodman, S.J., Cruz, M., Acevedo-Whitehouse, K. (2013). Applying the tools of ecological immunology to conservation: A test case in the

Galapagos sea lion. *Anim Conserv* 16:19–31. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2012.00567.x>

Brodgen, K.A. (2005). Antimicrobial Peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?. *Nature Reviews Microbiology* 3(3):238-50. DOI:10.1038/nrmicro1098.

Bugla-Płoskońska, G., Korzeniowska-Kowal, A., Gamian, A., Doroszkiewicz, W. (2004). Bactericidal activity of serum against *Salmonella* O48 serovars. *Int J Antimicrobiol Ag* 24: 203.

Bugla-Płoskońska, G., Kiersnowski, A., Futoma-Kołodziej, B., Doroszkiewicz, W. (2009). Killing of Gram-Negative Bacteria with Normal Human Serum and Normal Bovine Serum: Use of Lysozyme and Complement Proteins in the Death of *Salmonella* Strains O48. *Microbial Ecology*, 58(2), 276–289. doi:10.1007/s00248-009-9503-2.

Byers, C. G. (2016). Acute Hemolytic Disorders in Cats. *August's Consultations in Feline Internal Medicine*, Volume 7, 821–832. doi:10.1016/b978-0-323-22652-3.00083-9.

Cabeen, M. T. y Jacobs-Wagner, C. (2005). Bacterial cell shape. *Nature Reviews Microbiology*, 3(8), 601–610. doi:10.1038/nrmicro1205.

Calder, P.C., Krauss-Etschmann, S., de Jong, E.C., Dupont, C., Frick, J.S., Frokiaer, H., Heinrich, J., Garn, H., Koletzko, S., Lack, G., Mattelio, G., Renz, H., Sangild, P.T., Schrezenmeir, J., Stulnig, T.M., Thymann, T., Wold, A.E., Koletzko, B. (2006). Early nutrition and immunity - progress and perspectives. *Br J Nutr*; 96(4):774-90. Doi:10.1079/bjn20061917.

Campbell, R.A., Gales, N.J., Lento, G.M., Baker, C.S. (2007). Islands in the sea: extreme female natal site fidelity in the Australian sea lion, *Neophoca cinerea*. *Biol. lett.* 4(1): 139–142. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0487>.

Carlini, A.R., Marquez, M.E.I., Ramdohr, S., Bornemann, H., Panarello, H.O., Daneri, G.A. (2001). Postweaning duration and body composition changes in southern elephant seal (*Mirounga leonina*) pups at King George Island. *Physiol Biochem Zool* 74:531–540. DOI: 10.1086/322168.

Carlson-Bremer, D., Colegrove, K.M., Gulland, F.M., Conrad, P.A., Mazet, J.A., Johnson, C.K. (2015). Epidemiology and pathology of *Toxoplasma gondii* in free-ranging California sea lions (*Zalophus californianus*). *J Wildl Dis*; 51(2):362-73. doi: 10.7589/2014-08-205.

Carrick, J. B. y Begg, A. P. (2008). Peripheral Blood Leukocytes. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(2), 239–259. doi:10.1016/j.cveq.2008.05.003.

Carrillo, L. y Palacios-Hernández, E. (2002). Seasonal Evolution of the Geostrophic Circulation in the Northern Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 54(2), 157–173. doi:10.1006/ecss.2001.0845

Castro, R., Mascarenhas, A. S., Durazo, R., Collins, C. A. (2000). Seasonal variation of the temperature y salinity at the entrance to the Gul of California, México. *Ciencias Marinas*, 26: 561-583. DOI:10.7773/cm.v26i4.621.

Champagne, C.D., Crocker, D.E., Fowler, M.A., Houser, D.S. (2012). Fasting Physiology of the Pinnipeds: The Challenges of Fasting While Maintaining High Energy Expenditure and Nutrient Delivery for Lactation. In: McCue, M. (eds) *Comparative Physiology of Fasting, Starvation, and Food Limitation*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-29056-5_19.

Champagne, C.D., Houser, D.S., Crocker, D.E. (2006). Glucose metabolism during lactation in a fasting animal, the northern elephant seal. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291: R1129 –R1137. doi: 10.1152/ajpregu.00570.2005.

Champagne, C.D., Houser, D.S., Crocker, D.E. (2005). Glucose production and substrate cycle activity in a fasting adapted animal, the northern elephant seal. *J Exp Biol* 208: 859 –868. DOI: 10.1242/jeb.01476.

Christensen, R.D. (1989). Hematopoiesis in the fetus and neonate. *Pediatr Res*; 26(6):531-5. doi: 10.1203/00006450-198912000-00001.

Christopher, M. M. (2004). *Interpretation of Red Blood Cell Morphology (Advanced Level)* [Resumen de presentación de la conferencia]. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, Rhodes, Grecia. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11181&meta=generic&catId=30079&id=3852161>.

Cochran-Black, D. (2015). Hemolytic anemia: membrane defects. *Clinical laboratory hematology*. 3rd ed. New Jersey: Pearson.

CONAPESCA. (2020). Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2020 de la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. Disponible en <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuicultura-y-pesca>.

Collard, K.J., Godeck, S., Holley, J.E., Quinn, M.W. (2004). Pulmonary antioxidant levels and oxidative damage in ventilated premature babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*; 89(5):F412-6. doi: 10.1136/adc.2002.016717.

CONABIO. (2005). División política estatal, escala 1:1000000. En: Conjunto de datos vectoriales topográficos y toponímicos. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (2000). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.

Costa, D.A., Antonelis, D.A., DeLong, R.L. (1991). Effects of El Niño on the foraging energetics of the California sea lion. Trillmich, F. y Ono, K.A. (eds). Pinnipeds and El Niño. Responses to Environmental Stress. Springer, Berlin.

Costa, D. P, Kuhn, C., Weise, M. (2007). Foraging Ecology of the California Sea Lion: Diet, Diving Behavior, Foraging Locations, and Predation Impacts on Fisheries Resources. UC San Diego: California Sea Grant College Program. <https://escholarship.org/uc/item/9gr5784d>.

Costa, D. P., Croxall, J. P., Duck, C. D. (1989). Foraging energetics of Antarctic Fur Seals in relation to changes in prey availability. *Ecology* 70:596-606. DOI:10.2307/1940211.

Cowell, R.L., Tyler, R.D., Meinkoth, J.H., DeNicola, D. B. (2008). Cell Types and Criteria of Malignancy. *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (pp.22-25). Mosby Elsevier.

Crocker, D.E., Champagne, C.D., Fowler, M.A., Houser, D.S. (2014). Adiposity and fat metabolism in lactating and fasting northern elephant seals. *Adv Nutr* 1;5(1):57-64. doi: 10.3945/an.113.004663.

Crocker, D.E., Williams, J.D., Costa, D.P., Le Boeuf, B.J. (2001). Maternal traits and reproductive effort in northern elephant seals. *Ecology*, 82(12), pp. 3541–3555. DOI:10.1890/0012-9658(2001)082[3541:MTAREI]2.0.CO;2.

Cury, P., Roy, C., Mendelsohn, R., Bakun, A., Husby, D.M., Parrish, R.H. (1995). Moderate is better: exploring nonlinear climatic effects on the Californian northern anchovy (*Engraulis mordax*). Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Science, 121 (pp. 417-424).

D'Orazio, P., Burnett, R.W., Fogh-Andersen, N., Jacobs, E., Kuwa, K., Külpmann, W.R., Larsson, L., Lewenstam, A., Maas, A.H., Mager, G., Naskalski, J.W., Okorodudu, A.O. (2005). International Federation of Clinical Chemistry Scientific Division Working Group on Selective Electrodes and Point of Care Testing. Approved IFCC recommendation on reporting results for blood glucose (abbreviated). *Clin Chem*; 51(9):1573-6. doi: 10.1373/clinchem.

Daniel, J.C. (1971). Growth of the preimplantation embryo of the northern fur seal and its correlation with changes in uterine protein, *Dev. Biol.*, 26: 316-322. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(71\)90130-8](https://doi.org/10.1016/0012-1606(71)90130-8).

Demitri, N. y Zoubir, A.M. (2017). Measuring Blood Glucose Concentrations in Photometric Glucometers Requiring Very Small Sample Volumes. *IEEE Trans Biomed Eng*; 64(1):28-39. doi: 10.1109/TBME.2016.2530021.

DeRango, E.J., Prager, K.C., Greig, D.J., Hooper, A.W., Crocker, D.E. (2019). Climate variability and life history impact stress, thyroid, and immune markers in California sea lions (*Zalophus californianus*) during El Niño conditions. *Conserv Physiol*; 7(1):coz010. doi: 10.1093/conphys/coz010.

Desai, M., Crowther, N. J., Ozanne, S. E., Lucas, A., Hales, C. N. (1995). Adult glucose and lipid metabolism may be programmed during fetal life. *Biochemical Society Transactions*, 23(2), 331–335. doi:10.1042/bst0230331.

Desforges, J. P. W., Sonne, C., Levin, M., Siebert, U., De Guise, S. y Dietz, R. (2016). Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals. *Environment International*, 86, 126–139. doi:10.1016/j.envint.2015.10.0.

Donaldson, D.M., Roberts, R.R., Larsen, R.H., Tew, J.G. (1974). Interrelationship between serum beta-lysin, lysozyme, and the antibody-complement system in killing *Escherichia coli*. *Infect Immun* 3:657–666. DOI: 10.1128/iai.10.3.657-666.1974.

Donnelly, C.P., Trites, A.W., Kitts, D.D. (2003). Possible effects of pollock and herring on the growth and reproductive success of Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*): insights from feeding experiments using an alternative animal model, *Rattus norvegicus*. *Br J Nutr*; 89(1):71-82. doi: 10.1079/BJN2002750.

Dosako, S., Taneya, S., Kimura, T., Ohmori, T., Daikoku, H., Suzuki, N., Sawa, J., Kano, K., Katayama, S. (1983). Milk of northern fur seal: composition, especially carbohydrate and protein. *J Dairy Sci*; 66(10): 2076-83. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(83)82053-0.

Durazo, R. (2009). Climate and upper ocean variability off Baja California, Mexico: 1997–2008. *Progress in Oceanography*, 83(1-4), 361–368. doi:10.1016/j.pocean.2009.07.0.

Durazo, R., Gaxiola-Castro, G., Lavaniegos, B., Castro-Valdez, R., Gómez-Valdés, J., Da-S-Mascarenhas-Jr, A. (2005). Oceanographic conditions west of the Baja California coast, 2002–2003: A weak El Niño and subarctic water enhancement. *Ciencias Marinas*, 31(3), 537–552. <https://doi.org/10.7773/cm.v31i3.43>.

Eisert, R. (2011). Hypercarnivory and the brain: protein requirements of cats reconsidered. *J Comp Physiol B* 181:1–17. DOI: 10.1007/s00360-010-0528-0.

Eisert, R., Oftedal, O. T., Barrell, G. K. (2013). Milk Composition in the Weddell Seal *Leptonychotes weddellii*: Evidence for a Functional Role of Milk Carbohydrates in Pinnipeds. *Physiological and Biochemical Zoology*, 86(2), 159–175. doi:10.1086/669036.

Elorriaga-Verplancken, F. R., Sierra-Rodríguez, G. E., Rosales-Nanduca, H., Acevedo-Whitehouse, K., Sandoval-Sierra, J. (2016). Impact of the 2015 El Niño-Southern Oscillation on the Abundance and Foraging Habits of Guadalupe Fur Seals and California Sea Lions from the San Benito Archipelago, Mexico. PLOS ONE, 11(5), e0155034. doi:10.1371/journal.pone.01550.

Elorriaga-Verplancken, F. y Aurióles-Gamboa, D. (2008). Trace Metal Concentrations in the Hair of *Zalophus californianus* Pups and their Relation to Feeding Habits. Biological Trace Element Research, 126(1-3), 148–164. doi:10.1007/s12011-008-8186-8.

Elorriaga-Verplancken, F.R. (2009). Variación de $\delta^{15}\text{N}$ Y $\delta^{13}\text{C}$ en colágeno dental de lobos marinos del género *Zalophus*: patrones ontogénicos y geográficos [Tesis doctoral, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Digital Instituto Politécnico Nacional. <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/14332>

Elorriaga-Verplancken, F.R. (2004). Incidencia y efectos del enmalle sobre el lobo marino de california (*Zalophus californianus californianus*, Lesson 1828) en Los Islotes, B.C.S., Mexico. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Digital Instituto Politécnico Nacional. <http://repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/14403>

Else, P.L. y Hulbert, A.J. (2003). Membranes as metabolic pacemakers. Clin Exp Pharmacol Physiol. 30, 559–564. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2003.03883.x>.

Escalante, F., Valdéz Holguín, J.E., Álvarez-Borrego, S., Lara Lara, J.R. (2013). Temporal and spatial variation of sea surface temperature, chlorophyll a, and primary productivity in the Gulf of California. Ciencias Marinas, 39(2), 203–215. doi:10.7773/cm.v39i2.2233.

Farriols, M., Arellano-Carbajal, F., Elorriaga-Verplancken, F. R., Adame-Fernández, K., Garrido, E., Álvarez-Martínez, R. C., ... Acevedo-Whitehouse, K. (2020). Filarial infections in California sea lions vary spatially within the Gulf of California, Mexico. *Parasitology Research*. doi:10.1007/s00436-020-06638-y.

Facon, M.J. y Skura, B.J. (1996). Antibacterial activity of lactoferricin, lysozyme and EDTA against *Salmonella enteritidis*. *Int Dairy J* 3:303–313. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00004-6](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00004-6).

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2003). Food energy - methods of analysis and conversion factors. FAO FOOD AND NUTRITION PAPER. https://www.sennutricion.org/media/Docs_Consenso/Food_energy_methods_of_an_alysis_and_conversion_factors-FAO_2002.pdf

Feldkamp, S., DeLong, R., Antonelis, G. (2011). Diving patterns of California Sea Lions *Zalophus californianus*. *Canadian Journal of Zoology*. 67. 872-883. 10.1139/z89-129.

Feng, Y., Pan, X., Huang, N., Wu, Q., Wang, B. (2003). The human betadefensins expression in female genital tract and pregnancy related tissues. *Medical science edition* 34(2):217-9.

Flores-Morán, A., Banuet-Martínez, M., Elorriaga-Verplancken, F.R., García-Ortuño, L.E., Sandoval-Sierra, J., Acevedo-Whitehouse, K. (2017). Atypical Red Blood Cells Are Prevalent in California Sea Lion Pups Born during Anomalous Sea Surface Temperature Events. *Physiol Biochem Zool*; 90(5):564-574. doi: 10.1086/692919.

Ford, J. (2013). Red blood cell morphology. *Int J Lab Hematol*; 35(3):351–7. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12082>.

Frank, E.A., Shubha, M.C., D'Souza, C.J. (2012). Blood glucose determination: plasma or serum? *J Clin Lab Anal*; 26(5):317-20. doi: 10.1002/jcla.21524.

Fravel, V.A, Van-Bonn, W., Gulland, F., Rios, C., Havel, P. J. (2012). *Glucose Kinetics in Yearling California Sea Lions (Zalophus californianus)* [Resumen de presentación de la conferencia]. IAAAM Conference Proceedings, International Association for Aquatic Animal Medicine. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=5377987&pid=11354&print=1>.

Gallagher, P. G. (2013). Abnormalities of the erythrocyte membrane. *Pediatr Clin North Am*; 60(6):1349-62. doi: 10.1016/j.pcl.2013.09.001.

Gallagher, P. G. (2012). Hemolytic Anemias. *Goldman's Cecil Medicine*, 1052–1060. doi:10.1016/b978-1-4377-1604-7.00164-0.

Gallo-Reynoso, J.P. (2019). Hacia el concepto ecológico de especies y/o áreas de interés mutuo. Tendiendo puentes para una sustentabilidad integral. Universidad Autónoma Metropolitana. (pp.127-145).

García-Rodríguez, F.J., (1999). Cambios espaciales y estacionales en la estructura trófica y consumo del lobo marino de california, *Zalophus californianus*, en la región de las grandes islas, Golfo de California. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, B. C. S., México.

García-Rodríguez, F. y Aurióles-Gamboa, D. (2004). Spatial and temporal variation in the diet of the California sea lion (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. *Fishery Bulletin- National Oceanic and Atmospheric Administration*; 102(1). <http://hdl.handle.net/1834/30884>.

García-Hernández, J., King, K. A., Velasco, A. L., Shumilin, E., Mora, M. A., Glenn, E. P. (2001). Selenium, selected inorganic elements, and organochlorine pesticides

in bottom material and biota from the Colorado River delta. *Journal of Arid Environments*, 49(1), 65–89. doi:10.1006/jare.2001.0836.

Gasque, P., Dean, Y.D., McGreal, E.P., VanBeek, J., Morgan, B.P (2000). Complement components of the innate immune system in health and disease in the CNS. *Immunopharmacology* 49: 171–186. DOI: 10.1016/s0162-3109(00)80302-1.

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. *J Wildl Dis*; 12(1):104-15. doi: 10.7589/0090-3558-12.1.104.

Gitlin, D. y Biasucci, A. (1969). Development of gamma G, gamma A, gamma M, beta 1C-beta 1A, Ca 1 esterase inhibitor, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen, alpha 1-antitrypsin, orosomucoid, beta-lipoprotein, alpha 2-macroglobulin, and prealbumin in the human conceptus. *J Clin Invest* 48:1433-1446. doi: 10.1172/JCI106109.

Gittleman, J.L. y Thompson, S.D. (1988). Energy allocation in mammalian reproduction. *Am Zool* 28: 863– 875. <https://doi.org/10.1093/icb/28.3.863>.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). “Rocas Consag” 31°12’08.55”N, 114°40’48.3”O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). “Farallón San Ignacio” 25°26’10.95”N, 109°22’39.19”O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). “San Jorge” 31°00’48.56”N, 113°14’44.97”O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). "San Jorge" 31°00'48.56"N, 113°14'44.97"O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). "Cantiles" 29°28'23.52"N, 113°27'07.81"O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). "Cantiles" 29°28'23.52"N, 113°27'07.81"O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). "Machos" 29°17'33.87"N, 113°30'00.73"O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). "Partido" 28°54'40.93"N, 113°02'36.62"O. Febrero 8, 2022.

Google Earth 7.3.3.7786 (64-bit). (2020). "Islotes" 24°35'54.15"N, 110°24'10.08"O. Febrero 8, 2022.

Grabner, G.F., Xie, H., Schweiger, M. (2021). Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores. *Nat Metab* 3, 1445–1465 <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00493-6>.

Granick, J. L., Simon, S. I. y Borjesson, D. L. (2012). Hematopoietic Stem and Progenitor Cells as Effectors in Innate Immunity. *Bone Marrow Research*, 2012, 1–8. doi:10.1155/2012/165107.

Granot, E. y Kohen, R. (2004). Oxidative stress in childhood—in health and disease states. *Clinical Nutrition*, 23(1), 3–11. doi:10.1016/s0261-5614(03)00097-9.

Greig, D. J., Mashburn, K. L., Rutishauser, M., Gulland, F. M. D., Williams, T. M., Atkinson, S. (2007). Seasonal Changes in Circulating Progesterone and Estrogen Concentrations in the California Sea Lion (*Zalophus californianus*). *Journal of Mammalogy*, 88(1), 67–72. doi:10.1644/06-mamm-a-060r2.1.

Gulland, F.M., Haulena, M., Fauquier, D., Langlois, G., Lander, M.E., Zabka, T., Duerr, R. (2002). Domoic acid toxicity in Californian sea lions (*Zalophus californianus*): clinical signs, treatment and survival. *Vet Rec*; 13:150(15):475-80. doi: 10.1136/vr.150.15.475. PMID: 11995679.

Gulland, F. M. D., Koski, M., Lowenstine, L. J., Colagross, A., Morgan, L., Spraker, T. (2002). Leptospirosis in California sea lions (*Zalophus californianus*) stranded along the central California coast, 1981–1994. *Journal of Wildlife Diseases*, 32(4), 572–580. doi:10.7589/0090-3558-32.4.572.

Hall, S.E., Hall, A.J., Layberry, R.A., Berman, M., Hetenyi, G. Jr. (1976). Effects of age and fasting on gluconeogenesis from glycerol in dogs. *Am J Physiol* 230:362–367. DOI: 10.1152/ajplegacy.1976.230.2.362.

Hancock, R. E. W., Haney, E. F., & Gill, E. E. (2016). The immunology of host defence peptides: beyond antimicrobial activity. *Nature Reviews Immunology*, 16(5), 321–334. doi:10.1038/nri.2016.29.

Harcourt, R. (1992). Factors affecting early mortality in the South American fur seal (*Arctocephalus australis*) in Peru: density-related effects and predation. *Journal of Zoology*, 226(2), 259–270. doi:10.1111/j.1469-7998.1992.tb03838.x.

Harmat, V., Gál, P., Kardos, J., Szilágyi, K., Ambrus, G., Végh, B., Náráy-Szabó, G., Závodszy, P. (2004) The structure of MBL-associated serine protease-2 reveals that identical substrate specificities of C1s and MASP-2 are realized through different

sets of enzyme–substrate interaction. *J Mol Biol* 5:1533–1546. DOI: 10.1016/j.jmb.2004.07.014.

Harmening, D. (2009). The red blood cell: structure and function. *Clinical hematology and fundamentals of hemostasis*. 5th ed. Philadelphia: F.A. Davis Company. p. 759-792.

Harrison, R.J. (1968). General physiology of the pinnipedia, in *The Behavior and Physiology of Pinnipeds*, Harrison, R.J, Hubbard, R.S., Peterson, C.E, and Schusterman, R.J. (Eds.), Appleton-Century-Crofts, New York.

Harvell, C. D. (2002). Climate Warming and Disease Risks for Terrestrial and Marine Biota. *Science*, 296(5576), 2158–2162. doi:10.1126/science.1063699.

Hay, W.W. Jr. (2006). Placental-fetal glucose exchange and fetal glucose metabolism. *Trans Am Clin Climatol Assoc*; 117:321-39.

Hay, W.W. Jr. (1991). Energy and substrate requirements of the placenta and fetus. *Proc Nutr Soc*; 50(2):321-336. DOI: 10.1079/pns19910042.

He, Y.D., Xu, B.N., Song, D., Wang, Y.Q., Yu, F., Chen, Q., Zhao, M.H. (2020). Normal range of complement components during pregnancy: A prospective study. *Am J Reprod Immunol*; 83(2):e13202. doi: 10.1111/aji.13202.

Hessel, E. J.J. Agren, M. Paulitschke, O. Hanninen, A. Hanninen, D. Lerche, (1990). Freshwater fish diet affects lipid composition, deformability and aggregation properties of erythrocytes, *Atherosclerosis*. 82, 37–42. DOI: 10.1016/0021-9150(90)90141-5.

Hidalgo-González, R.M. y Álvarez-Borrego, S. (2004). Total and new production in the Gulf of California estimated from ocean color data from the satellite sensor

SeaWIFS. Deep-Sea Res. II 51: 739–752.
<https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2004.05.006>.

Houser, D.S., Derous, D., Douglas, A., Lusseau, D. (2021). Metabolic response of dolphins to short-term fasting reveals physiological changes that differ from the traditional fasting model. *J Exp Biol*; 224(9):jeb238915. doi: 10.1242/jeb.238915.

Houser, D. S., Champagne, C. D., Crocker, D. E. (2013). A Non-Traditional Model of the Metabolic Syndrome: The Adaptive Significance of Insulin Resistance in Fasting-Adapted Seals. *Frontiers in Endocrinology*, 4. doi:10.3389/fendo.2013.00164

Houser, D. S., Crocker, D. E., Tift, M. S., Champagne, C. D. (2012). Glucose oxidation and nonoxidative glucose disposal during prolonged fasts of the northern elephant seal pup (*Mirounga angustirostris*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 303, R562-R5870. DOI: 10.1152/ajpregu.00101.2012.

Jacox, M. G., Hazen, E. L., Zaba, K. D., Rudnick, D. L., Edwards, C. A., Moore, A. M., Bograd, S. J. (2016). Impacts of the 2015-2016 El Niño on the California Current system: early assessment and comparison to past events. *Geophys. Res. Lett.* 43, 7072–7080. <https://doi.org/10.1002/2016GL069716>.

Jancic, S. A. y Stosic, B. Z. (2014). Cadmium Effects on the Thyroid Gland. *Endocrine Disruptors*, 391–425. doi:10.1016/b978-0-12-800095-3.00014-6.

Jeklova, E., Leva, L., Jaglic, Z., Faldyna, M. (2008). Dexamethasone-induced immunosuppression: a rabbit model. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 122(3-4), 231–240. doi:10.1016/j.vetimm.2007.11.0.

Jiménez, A., Marinone, S.G., Parés-Sierra, A. (2005). Efecto de la variabilidad espacial y temporal del viento sobre la circulación en el Golfo de California. *Ciencias marinas*, 31(2), 357-368.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802005000300004&lng=es&tlng=es.

Jiménez-Quiroz, M. del C., Cervantes-Duarte, R., Funes-Rodríguez, R., Barón-Campis, S. A., García-Romero, F. de J., Hernández-Trujillo, S., ... Barrón-Barraza, F. J. (2019). Impact of “The Blob” and “El Niño” in the SW Baja California Peninsula: Plankton and Environmental Variability of Bahía Magdalena. *Frontiers in Marine Science*, 6. doi:10.3389/fmars.2019.00025

Jones, KW. (2009). Evaluation of cell morphology and introduction to platelet and white blood cell morphology. In: *Clinical hematology and fundamentals of hemostasis*. 5th ed. Philadelphia: F.A. Davis Company; p. 93-116.

Jungas R.L., Halperin, M.L., Brosnan, J.T. (1992). Quantitative analysis of amino acid oxidation and related gluconeogenesis in humans. *Physiol Rev* 72:419–448. DOI: 10.1152/physrev.1992.72.2.419.

Jungermann, K. (1986). Functional Heterogeneity of Periportal and Perivenous Hepatocytes. *Enzyme* 1986;35:161-180. doi: 10.1159/000469338.

Kai-Larsen, Y., Gudmundsson, G. H., Agerberth, B. (2014). A review of the innate immune defence of Kai the human foetus and newborn, with the emphasis on antimicrobial peptides. *Acta Paediatrica*, 103(10), 1000–1008. doi:10.1111/apa.12700.

Kamada, T., Yamashita, T., Baba, Y., Kai, M., Setoyama, S., Chuman, Y., Otsuji, S. (1986). Dietary Sardine Oil Increases Erythrocyte Membrane Fluidity in Diabetic Patients, *Diabetes*. 35, 604–611. DOI: 10.2337/diab.35.5.604.

Keogh, M. J., Maniscalco, J. M., Atkinson, S. (2010). Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) pups undergo a decrease in circulating white blood cells and the ability of T

cells to proliferate during early postnatal development. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 137(3-4), 298–304. doi:10.1016/j.vetimm.2010.05.0.

King, A.E., Paltoo, A., Kelly, R.W., Sallenave, J.M., Bocking, A.D., Challis, J.R. (2007). Expression of natural antimicrobials by human placenta and fetal membranes. *Placenta*; 28: 161–9. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2006.01.006>.

King, J. (1983). *Seals of the World*. British Museum and Cornell University Press. 240p.

Kintisch, K. (2015) “The Blob” invades Pacific, flummoxing climate experts. *Science*; 348: 17–18. DOI: 10.1126/science.348.6230.17.

Kohler, P. F. (1973). Maturation of the human complement system. I. Onset time and sites of fetal C1q, C4, C3, and C5 synthesis. *J Clin Invest* 52:671-677. doi: 10.1172/JCI107228.

Koslow, J.A., Goericke, R., Watson, W. (2013). Fish assemblages in the southern California Current: relationships with climate, 1951– 2008. *Fish Oceanogr* 22(3):207–219. <https://doi.org/10.1111/fog.12018>.

Koury, M.J., Sawyer, S.T., Brandt, S.J. (2002). New insights into erythropoiesis. *Curr. Opin. Hematol.* 9:93–100. DOI: 10.1097/00062752-200203000-00002.

Koury, M. J. y Ponka, P. (2004). New insights into erythropoiesis: The Roles of Folate, Vitamin B12, and Iron. *Annual Review of Nutrition*, 24(1), 105–131. doi:10.1146/annurev.nutr.24.012003.132306.

Kruger, P., Saffarzadeh, M., Weber, A. N. R., Rieber, N., Radsak, M., von Bernuth, H., ... Hartl, D. (2015). Neutrophils: Between Host Defence, Immune Modulation, and Tissue Injury. *PLOS Pathogens*, 11(3), e1004651. doi:10.1371/journal.ppat.10046.

Kuhn, C.E. y Costa, D.P. (2014). Interannual variation in the at-sea behavior of California sea lions (*Zalophus californianus*). *Mar Mamm Sci*;30: 1297–1319.

<https://doi.org/10.1111/mms.12110>.

Kumari, A. (2018). Beta Oxidation of Fatty Acids. *Sweet Biochemistry*, 17–19. doi:10.1016/b978-0-12-814453-4.00004-2.

Kuo, T., McQueen, A., Chen, T.-C., Wang, J. C. (2015). Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids. *Glucocorticoid Signaling*, 99–126. doi:10.1007/978-1-4939-2895-8_5.

Landis-Piwowar, K., Landis, J., Keila, P. (2015). The complete blood count and peripheral blood smear evaluation. In: *Clinical laboratory hematology*. 3rd ed. New Jersey: Pearson.

LAVIN, M. y Marinone, S. (2003). An Overview of the Physical Oceanography of the Gulf of California. *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics*. 10.1007/978-94-010-0074-1_11.

Lawlorjr, G., Stiehm, E., Kaplan, M., Sengar, D., Terasaki, P. (1973). Phytohemagglutinin (PHA) skin test in the diagnosis of cellular immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 52(1), 31–37. doi:10.1016/0091-6749(73)90118-8.

Le Boeuf, B.J., Whiting, R.J., Gantt, R.F. (1972). Perinatal behavior of northern elephant seal females and their young. *Behaviour*, 43:121-156. DOI: 10.1163/156853973x00508.

Le Boeuf, B. y Crocker, D. (2005). Ocean climate and seal condition. *BMC biology*. 3. 9. 10.1186/1741-7007-3-9.

Le Maho, Y., Robin, J.P., Cherel, Y. (1988). Starvation as a treatment for obesity: the need to conserve body protein. *News Physiol Sei* 3:21-24. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.1988.3.1.21>.

Kim, J. , Lee, H., Shin, S. (2015). Advances in the measurement of red blood cell deformability: A brief review, *J. Cell Biotechnol.* 1 (2015) 63–79. <https://doi.org/10.3233/JCB-15007>.

Legendre, P. (2018). lmodel2: Model II Regression. R package version 1.7-3. <https://CRAN.R-project.org/package=lmodel2>.

Lewis, D.A. y Wilson, C.B. (2006). Developmental Immunology and Role of Host Defenses in Fetal and Neonatal Susceptibility to Infection. *Remington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 4, 81-188. DOI:10.1016/B0-72-160537-0/50006-2.

Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases, *Clin. Intervent. Aging.* Volume 13 (2018) 757–772. DOI: 10.2147/CIA.S158513.

Lluch-Belda, D., Elorduy-Garay, J., Lluch-cota, S.E., Ponce-díaz, G. (2000). BAC: Centros de Actividad Biológica del Pacífico Mexicano. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. <http://dspace.cibnor.mx:8080/handle/123456789/2788>.

Liu, P.T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B.H., Krutzik, S.R., Ochoa, M.T., Schaubert, J., Wu, K., Meinken, C., Kamen, D. L., Wagner, M., Bals, R., Steinmeyer, A., Zügel, U., Gallo, R. L., Eisenberg, D., Hewison, M., Hollis, B. W., Adams, J. S., Bloom, B. R., Modlin, R. L. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-

mediated human antimicrobial response. *Science*; 311:1770–3. doi: 10.1126/science.1123933.

Lowry, M.S., Stewart, B.S., Heath, C.B., Yochem, P.K., Francis, J.M. (1991). Seasonal and annual variability in the diet of California sea lions *Zalophus californianus* at San Nicolas Island, California, 1981–1986. *Fish Bull* 89:331–336.

Lowry, M.S. y Maravilla-Chávez, M. (2005). Recent abundance of California sea lions in western Baja California, Mexico, and the United States. Proc. 6th California Islands Symposium, Ventura, California, 1–3 December 2003, pp. 485–487.

Lunn, N. J. y Boyd, I. L. (1993). Effects of maternal age and condition on parturition and the perinatal period of Antarctic fur seals. *Journal of Zoology (London)* 229:55-67. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1993.tb02620.x>.

Luque, S. P. y Auriolos-Gamboa, D. (2001). Sex differences in body size and body condition of California sea lion (*Zalophus californianus*) pups from the Gulf of California. *Marine Mammal Science*, 17(1), 147–160. doi:10.1111/j.1748-7692.2001.tb00985.x.

Lutz, H.U., Fumia, S., Schurtenberger, C., Alaia, V. (2007). Opinion paper: stimulation of complement amplification or activation of the alternative pathway of complement? *Mol Immunol* 16:3862–3865. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.06.146>.

Lynn, R.J. y Simpson, J.J., (1987). The California Current system: the seasonal variability of its physical characteristics. *Journal of Geophysical Research* 92, 12947– 12966. <https://doi.org/10.1029/JC092iC12p12947>.

Lyons, E., Melin, S., DeLong, R., Orr, A., Gulland, F., Tolliver, S. (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. doi:10.1016/s0304-4017(01)00418-6.

Lyons, E., Kuzmina, T., Spraker, T., Melin, S., DeLong, R. (2016). Hookworms (*Uncinaria lyonsi*) in Dead California Sea Lion (*Zalophus californianus*) Pups and Sand in Winter (2014–2015) on San Miguel Island, California. *Comparative Parasitology*. 83. 283-286. 10.1654/4824i.1.

Makarov, V. y Jiménez-Illescas, A. (2003). Barotropic background currents in the Gulf of California. *Ciencias marinas*, 29(2), 141-153. Recuperado en 18 de octubre de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802003000200001&lng=es&tlng=en.

Maluf, L.Y. (1983). Physical oceanography. Case, T.J., and M.L. Cody (eds), *Island Biogeography in the Sea of Cortez*, University of California Press, Berkeley; pp. 26-45.

Manchanda, N. (2015). Anemias: red blood morphology and approach to diagnosis. In: *Rodak's hematology clinical applications and principles*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Saunders; p. 284-96.

Marcogliese, D. (2008). The impact of climate change on the parasites and infectious diseases of aquatic animals. *Rev Sci Tech* 27: 467–484.

Marcogliese, D. J. (2001). Implications of climate change for parasitism of animals in the aquatic environment. *Canadian Journal of Zoology*, 79(8), 1331–1352. doi:10.1139/z01-067.

Marcos, A., Nova, E., Montero, A. (2003). Changes in the immune system are conditioned by nutrition. *Eur J Clin Nutr*; 57 Suppl 1:S66-9. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601819. PMID: 12947457.

Marinone, S. (2003). A three-dimensional model of the mean and seasonal circulation of the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research*. 108. 10.1029/2002JC001720.

Marinone, S.G. y Lavín, M.F. (1997). Mareas y corrientes residuales en el Golfo de California. En: M.F. Lavín (ed.), *Contribuciones a la Oceanografía Física en México*. Monografía No. 3, Unión Geofísica Mexicana, México, pp.111–131.

Markaida, U. (2006). Food and feeding of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California and adjacent waters after the 1997–98 El Niño event. *Fisheries Research*, 79(1-2), 16–27. doi:10.1016/j.fishres.2006.02.

McClatchie, S., Field, J., Thompson, A. R., Gerrodette, T., Lowry, M., Fiedler, P. C., ... Vetter, R. D. (2016). Food limitation of sea lion pups and the decline of forage off central and southern California. *Royal Society Open Science*, 3(3), 150628. doi:10.1098/rsos.150628.

McDade, T.W., Georgiev, A.V., Kuzawa, C.W. (2016). Trade-offs between acquired and innate immune defenses in humans. *Evol Med Public Health* 2016: 1–16. DOI: 10.1093/emph/eov033.

McDade, T. W. (2004). Life history, maintenance, and the early origins of immune function. *American Journal of Human Biology*, 17(1), 81–94. doi:10.1002/ajhb.20095.

McEwen, B.S., Biron, C.A., Brunson, K.W., Bulloch, K., Chambers, W.H., Dhabhar, F.S., Goldfarb, R.H., Kitson, R.P., Miller, A.H., Spencer, R.L. (1997). The role of

adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. *Brain Res Rev* 23: 79–133. DOI: 10.1016/s0165-0173(96)00012-4.

Melin, S. R., Orr, A. J., Harris, J. D., Laake, J. L., DeLong, R. L. (2012). California sea lions: an indicator for integrated ecosystem assessment of the California current system. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Investig. Rep.* 53, 140–152.

Melkonian, E.A., Asuka, E., Schury, M.P. (2022). Physiology, Gluconeogenesis. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541119/>

Méndez, L., Palacios, E., Acosta, B., Monsalvo-Spencer, P., Alvarez-Castañeda, T. (2006). Heavy Metals in the Clam *Megapitaria squalida* Collected from Wild and Phosphorite Mine-Impacted Sites in Baja California, Mexico: Considerations for Human Health Effects. *Biological Trace Element Research*, 110(3), 275–288. doi:10.1385/bter:110:3:275.

Merino, A. (2014). Alteraciones morfológicas de los eritrocitos. *Ed Cont Lab Clín*; 20: 41-64.

Merrifield, M. A. y Winant, C. D. (1989). Shelf circulation in the Gulf of California: A description of the variability. *Journal of Geophysical Research*, 94(C12), 18133. doi:10.1029/jc094ic12p18133.

Morales-Durán, N. del R. (2018). Respuestas del elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*) a desafíos inmunes en un contexto de historia de vida [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Repositorio Institucional DGBSDI- UAQ. <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1014>.

Moret, Y. y Schmid-Hempel, P. (2000). Survival for immunity: the price of immune system activation for bumblebee workers. *Science* 290:1166–1168. DOI: 10.1126/science.290.5494.1166.

Morgan, B.P. (1999). Regulation of the complement membrane attack pathway. *Crit Rev Immunol* 3:173–198. DOI:10.1615/CRITREVIMMUNOL.V19.I3.10.

Nagababu, E., Gulyani, S., Earley, C.J., Cutler, R.G., Mattson, M.P., Rifkind, J.M. (2008). Iron-deficiency anaemia enhances red blood cell oxidative stress. *Free Radic Res*; 42(9):824-9. doi: 10.1080/10715760802459879.

Newsholme, P., Stenson, L., Sulvucci, M., Sumayao, R., Krause, M. (2011). Amino Acid Metabolism. *Comprehensive Biotechnology*, 3–14. doi:10.1016/b978-0-08-088504-9.00002-7.

NOAA Fisheries. 2022. NOAA – FishWatch, U.S. SEAFOOD FACTS. <https://www.fishwatch.gov>.

NOAA/National Centers for Environmental Information (NCEI). 2021. SST, Daily Optimum Interpolation (OI), AVHRR Only, Version 2.1, Final, Global, 0.25°, 1981-present, Lon+/-180. <https://doi.org/10.25921/RE9P-PT57>.

Nollens, H. H., Hernandez, J. A., Jacobson, E. R., Haulena, M., Gulland, F. M. D. (2005). Risk factors associated with development of poxvirus lesions in hospitalized California sea lions. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227(3), 467–473. doi:10.2460/javma.2005.227.467.

Noren, D.P., Crocker, D.E., Williams, T.M., Costa, D.P. (2003). Energy reserve utilization in northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*) pups during the postweaning fast: size does matter. *J Comp Physiol B* 173:443–454. DOI: 10.1007/s00360-003-0353-9.

Noren, S.R., Boness, D.J., Iverson, S.J., McMillan, J., Bowen, W.D. (2008). Body condition at weaning affects the duration of the postweaning fast in gray seal pups (*Halichoerus grypus*). *Physiol Biochem Zool* 81:269–27. DOI:10.1086/528777.

Norman, S. A., DiGiacomo, R. F., Gulland, F. M. D., Meschke, J. S., Lowry, M. S. (2008). Risk factors for an outbreak of leptospirosis in California sea lions (*Zalophus californianus*) in California, 2004. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(4), 837–844. doi:10.7589/0090-3558-44.4.837.

Oftedal, O.T., Boness, D.J., Tedman, R.A. (1987). The behavior, physiology, and anatomy of lactation in the Pinnipedia. *Current Mammalogy* 1, 175–245.

Oftedal, O. T. (2000). Use of maternal reserves as a lactation strategy in large mammals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(01), 99–106. doi:10.1017/s0029665100000124.

Oftedal, O. T. (2011). Milk of Marine Mammals. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 563–580. doi:10.1016/b978-0-12-374407-4.00321-6.

Ogundele, M.O. (1998). A novel anti-inflammatory activity of lysozyme: modulation of serum complement activation. *Med Inflamm* 7:363–365. DOI: 10.1080/09629359890893.

Ono, K.A., Boness, D.J., Oftedal, O.T. (1987). The effect of a natural environmental disturbance on maternal investment and pup behavior in the California Sea lion. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 1987;21(2):109-118. <https://doi.org/10.1007/BF02395438>.

Orr, A.J., VanBlaricom, G.R., DeLong, R.L., Cruz-Escalona, V.H., Newsome, S.D. (2011). Intraspecific comparison of the diet of California sealions (*Zalophus californianus*) assessed using fecal and stable isotope analysis. *Can J Zool* 89:109–122. <https://doi.org/10.1139/Z10-101>.

Owen, J., Punt, J., Jones, P. (2013). *Inmunología de Kuby*, 7a Ed. McGraw-Hill.

Palmer, L., Briggs, C., McFadden, S., Zini, G., Burthem, J., Rozenberg, G., ... Machin, S. J. (2015). ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *International Journal of Laboratory Hematology*, 37(3), 287–303. doi:10.1111/ijlh.12327.

Patrzykat, A., Friedrich, C.L., Zhang, L., Mendoza, V., Hancock, R.E. (2002). Sublethal concentrations of pleurocidin derived antimicrobial peptides inhibit macromolecular synthesis in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*; 46: 605-614. doi: 10.1128/AAC.46.03.605-614.2002.

Pearson, H. A. (1967). Life-span of the fetal red blood cell. *The Journal of Pediatrics*, 70(2), 166–171. doi:10.1016/s0022-3476(67)80410-4.

Peig, J. y Green, A. (2009). New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. *Oikos*. 118. 1883 - 1891. 10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x.

Pelayo-González, L., Hernández-Camacho, C. J., Aurióles-Gamboa, D., Gallo-Reynoso, J. P., Barba-Acuña, I. D., Godínez-Reyes, C., ... Villalobos, H. (2021). Effect of environmental variables on the number of births at California sea lion (*Zalophus californianus*) rookeries throughout the Gulf of California, Mexico. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 31(7), 1730–1748. doi:10.1002/aqc.3545.

Peschle, C., Mavilio, F., Care, A., Migliaccio, G., Migliaccio, A.R., Salvo, G., Samoggia, P., Petti, S., Guerriero, R., Marinucci, M., Lazzaro, D., Russo, G., Mastroberardino, G. (1985). Haemoglobin switching in human embryos: Asynchrony of zeta - alpha and epsilon - gamma-globin switches in primitive and definite erythropoietic lineage. *Nature* 313: 235-8. Doi:10.1038/313235a0.

Petterson, A. (1926). Ueber die warmebestandigen keimtotenden Substanzen, die Beta-ly-sine der Tiersera und die von diesen beeinflussten Bakterien. *Z. Immunitaetaforsh. Exp. Ther.* 48:233-296.

Pickles, R. S. A., Thornton, D., Feldman, R., Marques, A., & Murray, D. L. (2013). Predicting shifts in parasite distribution with climate change: a multitrophic level approach. *Global Change Biology*, 19(9), 2645–2654. doi:10.1111/gcb.12255.

Playfair, J., Wolfendale, M., Kay, H. (1963). The leucocytes of peripheral blood in the human foetus. *Br J Haematol*; 9:336-344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1963.tb06558.x>.

Porras-Peters, H.D., Auriol-Gamboa, D., Cruz-Escalona, V., Koch, P. (2008). Trophic level and overlap of sea lion (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. *Mar Mammal Sci*; 24: 554–576. 10.1111/j.1748-7692.2008.00197.x.

QGIS.org. (2022). QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>.

R Development Core Team. (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2016. <https://www.R-project.org>.

Radzikowska, U., Rinaldi, A.O., Çelebi Sözüner, Z., Karaguzel, D., Wojcik, M., Cypryk, K., Akdis, M., Akdis, C.A., Sokolowska, M. (2019). The Influence of Dietary

Fatty Acids on Immune Responses. *Nutrients*, 11, 2990.
<https://doi.org/10.3390/nu1122990>

Ralston, S., Field, J.C., Sakuma, K.M. (2015). Long-term variation in a central California pelagic forage assemblage. *J Mar Syst* 146:26–37.
<https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2014.06.013>.

Rapp, H.J. y Borsos, T. (1970). Molecular Basis of Complement Action. *The Quarterly Review of Biology*. Appleton-Century-Crofts.
<https://doi.org/10.1086/407247>.

Ratnaningsih, T., Martani, G., Putri, D., Sukorini, U. (2020). Schistocytes Evaluation in Iron Deficiency: An Assessment Adopted From ICSH Nomenclature Guideline. *10.21203/rs.3.rs-76653/v1*.

Rauw, W. (2012). Immune response from a resource allocation perspective. *Frontiers in Genetics*. 3:267. 1-14. [10.3389/fgene.2012.00267](https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00267).

Ravin, K. A. y Loy, M. (2015). The Eosinophil in Infection. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 50(2), 214–227. doi:10.1007/s12016-015-8525-4.

Rea, L.D. y Costa, D.P. (1992). Changes in standard metabolism during long-term fasting in northern elephant seal pups (*Mirounga angustirostris*). *Physiol Zool* 65:97–111. <https://doi.org/10.1086/physzool.65.1.30158241>.

Rea, L. D., Rosen, D. A., Trites, A. W. (2000). Metabolic response to fasting in 6-week-old Steller sea lion pups (*Eumetopias jubatus*). *Canadian Journal of Zoology*, 78(5), 890–894. doi:10.1139/z00-007.

Rea, L.D. (1995). Prolonged fasting in pinnipeds. [Tesis doctoral, University of Alaska, Fairbanks]. College of Fisheries and Ocean Sciences. <http://hdl.handle.net/11122/9447>

Rea, L.D., Castellini, M.A., Fadely, B.S., Loughlin, T.R. (1998). Health status of young Alaska Steller sea lion pups (*Eumetopias jubatus*) as indicated by blood chemistry and hematology. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*;120(4):617-23. doi: 10.1016/s1095-6433(98)10074-0.

Rebel, A., Rice, M. A., Fahy, B. G. (2012). The Accuracy of Point-of-Care Glucose Measurements. *Journal of Diabetes Science and Technology*, 6(2), 396–411. doi:10.1177/193229681200600228.

Ren, M., Zhang, S., Liu, X., Li, S., Mao, X., Zeng, X., Qiao, S. (2016). Different lipopolysaccharide branched-chain amino acids modulate porcine intestinal endogenous β -defensin expression through the Sirt1/ERK/90RSK pathway. *J Agric Food Chem*;64:3371–9. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00968.

Riedman, M. (1990). *Seals. Sea lions and walruses*. Oxford Univ. Press. Oxford.

Riet-Sapriza, F. G., Duignan, Pá. J., Chilvers, B. L., Wilkinson, I. S., Lopez-Villalobos, N., Mackenzie, D. D. S., ... Gales, N. (2012). Interannual and individual variation in milk composition of New Zealand sea lions (*Phocarctos hookeri*). *Journal of Mammalogy*, 93(4), 1006–1016. doi:10.1644/11-mamm-a-220.2.

Ripa, P. y Marinone, S.G. (1989). Seasonal variability of temperature, salinity, velocity, vorticity and sea level in the central Gulf of California, as inferred from historical data. *Quarterly J. of the Royal Meteorological Soc.*, 115: 887-913. <https://doi.org/10.1002/qj.49711548807>.

Ripa, P. (1997). Towards a physical explanation of the seasonal dynamics and thermodynamics of the Gulf of California, *J. Phys. Ocean*, 27: 597-614. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1997\)027<0597:TAPEOT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1997)027<0597:TAPEOT>2.0.CO;2).

Robeck, T., Atkinson, S., Brook, F. (2001). Reproduction. Dierauf, L. A y Gulland, F. M. D. (Eds.), *Handbook of Marine Mammal Medicine*, Segunda Edición. CRC Press.

Robinson, H., Thayer, J., Sydeman, W. J., Weise, M. (2018). Changes in California sea lion diet during a period of substantial climate variability. *Marine Biology*, 165(10). doi:10.1007/s00227-018-3424-x.

Rodak, B.F. y Carr, J.H. (2017). Variations in shape and distribution of erythrocytes. In: *Clinical hematology atlas*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Inc. p. 93-106.

Roden, G.I. (1964). Oceanographic Aspects of Gulf of California. *Marine Geology of the Gulf of California*. <https://doi.org/10.1306/M3359C2>.

Roletto, J. (1993). Hematology and serum chemistry values for clinically healthy and sick pinnipeds. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 24 (2), pp. 145-157. <https://doi.org/10.1306/M3359C2>.

Rosen, D.A., Trites, A.W. (1999). Metabolic effects of low-energy diet on steller sea lions, *Eumetopias jubatus*. *Physiol Biochem Zool*; 72(6):723-31. doi: 10.1086/316705.

Rosen, D. A. S. y Trites, A. W. (2002). Changes in metabolism in response to fasting and food restriction in the Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 132(2), 389–399. doi:10.1016/s1096-4959(02)00048-9.

Rosen, D. y Trites, A. (2000). Pollock and the decline of Steller sea lions: Testing the junk-food hypothesis. *Canadian Journal of Zoology*. 78. 1243-1250. [10.1139/cjz-78-7-1243](https://doi.org/10.1139/cjz-78-7-1243).

Round, F.E. (1967). The phytoplankton of Gulf of California. Part 1. Its composition, distribution and contribution to the sediments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1:76-97. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(67\)90008-1](https://doi.org/10.1016/0022-0981(67)90008-1).

Sakamoto, M. y Nishioka, K. (1992). Complement System in Nutritional Deficiency. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 114–139. doi:10.1159/000419462.

Sakuma, K.M., Field, J.C., Mantua, N., Ralston, S., Marinovic, B.B., Carrion, C. N. (2016). Anomalous epipelagic micronekton assemblage patterns in the neritic waters of the California current in spring 2015 during a period of extreme ocean conditions. *CalCOFI Rep.*, Vol. 57.

Sánchez-Pérez, E. D., Sánchez-Velasco, L., Ruvalcaba-Aroche, E. D., Ornelas-Vargas, A., Beier, E., Barton, E. D., ... Contreras-Catala, F. (2021). Temperature and dissolved oxygen concentration in the Pacific Ocean at the northern region of the oxygen minimum zone off Mexico between the last two PDO cool phases. *Journal of Marine Systems*, 222, 103607. doi:10.1016/j.jmarsys.2021.103.

Santamaría-del-Ángel, E., Álvarez-Borrego, S., Muller-Karger, F.E. (1994). Gulf of California biogeographic regions based on coastal zone color scanner imagery. *J. Geophys. Res.* 99: 7411–7421. DOI:10.1029/93JC02154.

Scholl, T.O., Sowers, M., Chen, X., Lenders, C. (2001). Maternal Glucose Concentration Influences Fetal Growth, Gestation, and Pregnancy Complications, *American Journal of Epidemiology*; 154(6), 514–520, <https://doi.org/10.1093/aje/154.6.514>.

Seelen, M.A., Roos, A., Wieslander, J., Mollnes, T.E., Sjöholm, A.G., Wurzner, R., Loos, M., Tedesco, F., Sim, R.B., Garred, P., Alexopoulos, E., Turner, M.W., Daha, M.R. (2005). Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: standardization and validation of a simple ELISA. *J Immunol Meth* 1–2:187–198. DOI: 10.1016/j.jim.2004.11.016.

Seguel, M., Montalva, F., Perez-Venegas, D., Gutierrez, J., Paves, H., Muller, A., Valencia, C., Howerth, E., Mendiola, V., Gottdenker, N. (2018). Immune mediated hookworm clearance and survival of a marine mammal decreases with warmer ocean temperatures. *eLife* 7: 1-31. <https://elifesciences.org/articles/38432>.

Shamri, R., Xenakis, J.J., Spencer, L.A. (2011). Eosinophils in innate immunity: an evolving story. *Cell Tissue Res* 343(1):57–83. 10.1007/s00441-010-1049-6.

Shite, J., Qin, F., Mao, W., Kawai, H., Stevens, S.Y. (2001). Antioxidant vitamins attenuate oxidative stress and cardiac dysfunction in tachycardia – induced cardiomyopathy. *J Am College Cardiol*; 38(6):1734-40. DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01596-0.

Shumilin, E., Rodríguez-Figueroa, G., Sapozhnikov, D., Sapozhnikov, Y., & Choumilina, K. (2012). Anthropogenic and Authigenic Uranium in Marine Sediments of the Central Gulf of California Adjacent to the Santa Rosalía Mining Region. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(3), 309–322. doi:10.1007/s00244-012-9776-1.

Sidor, I.F., Goldstein, T., Hoag, J., Frasca, S., Gulland, F., Dunn, J. L. (2008). Brucella-Associated Abortion in California Sea Lions (*Zalophus californianus*) [Resumen de presentación de la conferencia]. IAAAM Conference Proceedings, International Association for Aquatic Animal Medicine. <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11259&meta=generic&catId=32519&id=3863209&ind=36&objTypeID=17>.

Sidwell, V.D., Foncannon, P.R., Moore, N.S., Bonnet, J.C. (1974). Composition of the edible portion of raw (fresh or frozen) crustaceans, fish, and mollusks. I. Protein, fat, moisture, ash, carbohydrate, energy value, and cholesterol. *Mar Fish Rev* 36(3):21–35.

Simons, R.A. 2020. ERDDAP. <https://coastwatch.pfeg.noaa.gov/erddap> . Monterey, CA: NOAA/NMFS/SWFSC/ERD.

Smith, N.C., Rise, M.L., Christian, S.L. (2019). A Comparison of the Innate and Adaptive Immune Systems in Cartilaginous Fish, Ray-Finned Fish, and Lobe-Finned Fish. *Front Immunol*;10:2292. doi: 10.3389/fimmu.2019.02292.

Snow, N.S. (1962). Some observations on the reactive sulphhydryl groups in haemoglobin. *Biochem J*; 84(2):360-4. doi: 10.1042/bj0840360.

Soto-García, L. (2016). Distribución espacial de Adenovirus entérico en el lobo marino de California y su relación con variables fisico-químicas, geográficas y ecológicas. [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro]. Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, México.

Strick, J. M., Fritz, L. W., Lewis, J. P. (1997). Aerial and ship-based surveys of Steller sea lions (*Eumetopias jubatus*) in Southeast Alaska, the Gulf of Alaska, and Aleutian Islands during June and July 1994. U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Memo. NMFS-AFSC-71,55 p.

Suchowersky, N. D., Carlson, E. A., Lee, H. P., Behrend, E. N. (2021). Comparison of glucose concentrations in canine whole blood, plasma, and serum measured with a veterinary point-of-care glucometer. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 33(4), 695–702. doi:10.1177/10406387211019755.

Szteren, D., D. Aurioles y L. R. Gerber. (2006). Population status and trends of the California sea lion (*Zalophus californianus californianus*) in the Gulf of California, Mexico. Alaska Sea Grant College Program AK-SG-06:1–17. 10.4027/slw.2006.25.

Szteren, D. y Gamboa, D. (2011). Ecological regionalization of *Zalophus californianus* rookeries, as a tool for conservation in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*. 37. 349-368. 10.7773/cm.v37i3.1818.

Szteren, D. y Aurioles-Gamboa, D. (2013). Elementos traza en hueso de *Zalophus californianus* en el golfo de California: Una evaluación comparativa de áreas potencialmente contaminadas. *Ciencias marinas*. 39. 306-315.

Talukder, P., Satho, T., Irie, K., Sharmin, T., Hamady, D., Nakashima, Y., Kashige, N., Miake, F. (2011). Trace metal zinc stimulates secretion of antimicrobial peptide LL-37 from Caco-2 cells through ERK and p38 MAP kinase. *Int Immunopharmacol*; 11:141–4. DOI: 10.1016/j.intimp.2010.10.010.

Tang, Z., Louie, R. F., Payes, M., Chang, K.-C. J., & Kost, G. J. (2000). Oxygen Effects on Glucose Measurements with a Reference Analyzer and Three Handheld Meters. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2(3), 349–362. doi:10.1089/15209150050194215.

Tauk, B. S., Drobotz, K. J., Wallace, K. A., & Hess, R. S. (2015). Correlation between glucose concentrations in serum, plasma, and whole blood measured by a point-of-care glucometer and serum glucose concentration measured by an automated biochemical analyzer for canine and feline blood samples. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(12), 1327–1333. doi:10.2460/javma.246.12.1327.

Tavian, M., & Peault, B. (2005). Embryonic development of the human hematopoietic system . *The International Journal of Developmental Biology*, 49(2-3), 243–250. doi:10.1387/ijdb.041957mt.

Tavian, M., Hallais, M.F., Peault, B. (1999). Emergence of intraembryonic hematopoietic precursors in the pre-liver human embryo. *Development* 126: 793-803. DOI: 10.1242/dev.126.4.793.

Tershy, B.R., Breese, D., Alvarez-Borrego, S. (1991). Increase in cetacean and seabird numbers in the Canal de Ballenas during an El Niño-Southern Oscillation event. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69: 299–302. DOI:10.3354/meps069299.

Tesoriere, L., Bongiorno, A., Pintaudi, A.M., D'Anna, R., D'Arpa, D., Livrea, M.A. (1996). Synergistic interactions between vitamin A and vitamin E against lipid peroxidation in phosphatidylcholine liposomes. *Arch Biochem Biophys*, 326: 57-63. 10.1006/abbi.1996.0046.

Tesoriere, L., Bongiorno, A., Re, R., Livrea, M.A. (1995). Reciprocal protective effects of all-trans retinol and alpha-tocopherol during lipid peroxidation in retinal membranes. *Biochem Mol Biol Int*, 37: 1-7.

Théry, C. y Amigorena, S. (2001). The cell biology of antigen presentation in dendritic cells. *Current Opinion in Immunology*, 13(1), 45–51. doi:10.1016/s0952-7915(00)00180-1.

Thompson, A. R., Schroeder, I. D., Bograd, S. J., Hazen, E. L., Jacox, M. G., Leising, A., ... Melin, S. R. (2018). State of the California current 2017–18: still not quite normal in the North and getting interesting in the South. *Calif. Cooperat. Ocean. Fish. Investig. Rep.* 59, 1–66.

Thompson, P. M., Tollit, D. J., Corpe, H. M., Reid, R. J., Ross, H. M. (1997). Changes in haematological parameters in relation to prey switching in a wild population of

harbour seals. *Functional Ecology*, 11(6), 743–750. doi:10.1046/j.1365-2435.1997.00148.x.

Thompson, A. R., Schroeder, I. D., Bograd, S. J., Hazen, E. L., Jacox, M. G., Leising, A. (2019). State of the California current 2018–19: a novel anchovy regime and a new marine heat wave? *Calif. Cooperat. Ocean. Fish. Investig. Rep.* 60, 1–65. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.709454>.

Tigner, A., Ibrahim, S.A., Murray, I. (2021). Histology, White Blood Cell. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563148/>.

Torres-Orozco, E. (1993). Análisis volumétrico de las masas de agua del Golfo de California. [Tesis de Maestría]. Centro de Investigación Científica de Educación Superior de Ensenada, Ensenada, México.

Trillmich, F., Limberger, D. (1985). Drastic effects of El Niño on Galapagos Ecuador pinnipeds. *Oecologia*; 67(1):19-22. DOI: 10.1007/BF00378445.

Trillmich, F., Ono, K. A., Costa, D. P., DeLong, R. L., Feldkamp, S. D., Francis, J. M., ... York, A. E. (1991). The Effects of El Niño on Pinniped Populations in the Eastern Pacific. *Pinnipeds and El Niño*, 247–270. doi:10.1007/978-3-642-76398-4_27.

Trinder, P. (1969). Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. *Ann Clin Biochem*; 6: 24-33. <https://doi.org/10.1177/000456326900600108>.

Turgeon, M.L. (1999). Normal erythrocyte lifecycle and physiology. In: *Clinical hematology: theory and procedures*. 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. p. 71-98.

Valdéz-Holguín, J. y Lara-Lara, J. (1987). Primary Productivity In The Gulf Of California Effects Of El Niño 1982-1983 Event. *Ciencias Marinas*, 13(2), 34–50. <https://doi.org/10.7773/cm.v13i2.533>.

Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. D. (2014). White Blood Cells. *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears*, 111–213.e2. doi:10.1016/b978-0-323-04468-4.00003-3.

Valent, P. y Battelheim, P. (1990). The human basophil. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 10(4), 327–352. doi:10.1016/1040-8428(90)90009-h.

Velarde, E.A. y Ezcurra, E. (2015). Sardine fishery collapse in the Gulf of California. *DataMares*. Interactive Resource. <http://dx.doi.org/10.13022/M35K5P>.

Venn-Watson, S., Carlin, K., Ridgway, S. (2011). Dolphins as animal models for type 2 diabetes: Sustained, post-prandial hyperglycemia and hyperinsulinemia. *General and Comparative Endocrinology*, 170(1), 193–199. doi:10.1016/j.ygcen.2010.10.00.

Ventimiglia, F. D., Rivas-Ibargüen, M. A., Vildoza, A., Orsilles, M.A. (2017). Valor diagnóstico de la morfología eritrocitaria en las anemias. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 51(3), 379-386. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572017000300013&lng=es&tlng=es.

Warnes, D.M., Seamark, R.F., Ballard, F.J. (1977). The appearance of gluconeogenesis at birth in sheep. Activation of the pathway associated with blood oxygenation. *Biochem J* 162:627-634. 10.1042/bj1620627.

Weber, E., Auth, T., Baumann-Pickering, S., Baumgartner, T., Bjorkstedt, E., Bograd, S., ... Zeman, S. M. (2021). State of the California Current 2019-2020: Back

to the Future With Marine Heatwaves? UC San Diego. Front. Mar. Sci. <http://dx.doi.org/10.3389/fmars.2021.709454>.

Weise, M. y Harvey, J. (2008). Temporal variability in ocean climate and California sea lion diet and biomass consumption: Implications for fisheries management. Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER. 373. 157-172. [10.3354/meps07737](https://doi.org/10.3354/meps07737).

Wells, B. K., Schroeder, I. D., Bograd, S., Hazen, E. L., Jacox, M. G., Leising, A., ... Thayre, B. (2017). State of the California current 2016-2017: still anything but "Normal" in the North. Calif. Cooperat. Ocean. Fish. Investig. Rep. 58, 1–55.

Wilson, C.B. (1990). Developmental immunology and role of host defenses in neonatal susceptibility. In: Remington JS, Klein JO, editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia: W.B. Saunders. p 17–67.

Witte, T.R., Salazar, A.J., Ballester, O.F., Hardman, W.E. (2010). RBC and WBC fatty acid composition following consumption of an omega 3 supplement: Lessons for future clinical trials, Lipids Health Dis. 9, 31. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-9-31>.

Wolf, J.B. y Trillmich, F. (2007). Beyond habitat requirements: individual fine-scale site fidelity in a colony of the Galapagos sea lion (*Zalophus worrebaeki*) creates conditions for social structuring. Oecologia;152(3):553-67. doi: 10.1007/s00442-007-0665-7.

Woodward, B., y Draper, H.H. (2001). Immunological properties of milk. Adv Nutr Res; 10: 1–410. [10.1016/B978-0-7216-9654-6.50166-1](https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-9654-6.50166-1).

Wu, J., Ma, N., Johnston, L.J., Ma, X. (2020). Dietary Nutrients Mediate Intestinal Host Defense Peptide Expression. *Adv Nutr*; 11(1):92-102. doi: 10.1093/advances/nmz057.

Yona, S. y Jung, S. (2010). Monocytes: subsets, origins, fates and functions. *Current Opinion in Hematology*, 17(1), 53–59. doi:10.1097/moh.0b013e3283324f.

Yoshio, H., Tollin, M., Gudmundsson, G.H., Lagercrantz, H., Jornvall, H., Marchini, G., Agerberth, B. (2003). Antimicrobial polypeptides of human vernix caseosa and amniotic fluid: implications for newborn innate defense. *Pediatr Res* 2003; 53: 211–6. doi: 10.1203/01.PDR.0000047471.47777.B0.

Zaba, K. D. y Rudnick, D. L. (2016). The 2014-2015 warming anomaly in the Southern California Current System observed by underwater gliders. *Geophys Res Lett*; 43:1241-1248. <https://doi.org/10.1002/2015GL067550>.

Zavala, G.A. y Mellink, E. (1997). Entanglement of California sea lions, *Zalophus californianus californianus*, in fishing gear in the central-northern part of the Gulf of California. *Fish. Bull.*, 95: 180–184.

Zavala-Norzagaray, A., Aguirre, A., Angulo-Zamudio, U. A., Ley-Quíñonez, C.P., Flores-Villaseñor, H., León-Sicairos, N., Velázquez-Román, J., Elorriaga-Verplancken, F.R., Zavala-Félix, K. A., Hart, C. E., Canizalez-Román, A. (2022). Isolation, characterization, and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from sea lion (*Zalophus californianus*) pups in northwestern Mexico. *J Wildl Dis* 2022; doi: <https://doi.org/10.7589/JWD-D-21-00183>.

Zeitzschel, B. (1969). Primary productivity in the Gulf of California. *Mar. Biol.* 3, 201–207. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00360952>.

Zeng, X., Sunkara, L.T., Jiang, W., Bible, M., Carter, S., Ma, X., Qiao, S., Zhang, G. (2013). Induction of porcine host defense peptide gene expression by short-chain fatty acids and their analogs. PLoS One; 8:e72922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072922>.

Zwolinski, J.P., Emmett, R.L., Demer, D. A. (2011). Predicting habitat to optimize sampling of Pacific sardine (*Sardinops sagax*), ICES Journal of Marine Science, 68 (5), 867–879. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsr038>.