



INFORME FINAL DE PROYECTO

**CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES DE
TURSIOPS TRUNCATUS (CETACEA: DELPHINIDAE)
EN LA COSTA NORTE CENTRAL DE CUBA**

Ronar López, Celia Guevara, Laima Sánchez, Liena Sánchez
Greicy Fernandez, Danilo Cruz, Victor Isla



La Habana, Octubre 2017



INFORME FINAL DE PROYECTO

CARACTERIZACIÓN DE LAS POBLACIONES DE *TURSIOPS TRUNCATUS* (CETACEA: DELPHINIDAE) EN LA COSTA NORTE CENTRAL DE CUBA

CÓDIGO.P211LH005-002

Programa "Uso sostenible de los componentes de la biodiversidad en Cuba".
Financiamiento de la Agencia Nacional del Medio Ambiente de Cuba (AMA) y el Acuario Nacional de Cuba (ANC). Licencia de recolección No. 19/2015 del Centro de Inspección Ambiental y Control de Cuba (CICA).

INSTITUCIÓN EJECUTORA

Acuario Nacional de Cuba, Calle 1ra, esquina 60, Playa, AMA-CITMA



COLECTIVO DE AUTORES	GRADO DE PARTICIPACIÓN (%)	INSTITUCIÓN
Ronar López	90	Acuario Nacional de Cuba
Celia Guevara	70	Acuario Nacional de Cuba
Liena Sánchez	70	Acuario Nacional de Cuba
Laima Sánchez	70	Acuario Nacional de Cuba
Greicy Fernández		
Victor Isla	40	Acuario Nacional de Cuba
Danilo Cruz		
Alessandra Fonte		Universidad Agraria de La Habana
Ma. Caridad Montalvo		Instituto Medicina Tropical Pedro Kouri

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
AVISTAMIENTOS, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN, CARACTERÍSTICAS GRUPALES DE DELFINES EN VARADERO	11
Área de estudio	11
Diseño del muestreo.....	12
EVALUACIÓN CLÍNICA DE DELFINES EN EL ÁREA DE CAPTURA.....	15
Área de muestreo para la evaluación clínica	15
Método para la caracterización clínica	16
Caracterización clínico-microbiológica del sistema respiratorio.....	19
Diagnóstico serológico de brucelosis en delfines	20
Diagnóstico serológico de hepatitis en delfines.....	20
MODELACIÓN DE CRECIMIENTO DE DELFINES	23
La dinámica de crecimiento de los delfines fue descrita por dos métodos alternativos. El primero de ellos, fue empleando datos de medidas corporales directas, tomadas sobre los animales capturados y por eso es referido como "método directo" y el segundo o Método indirecto, a partir del conteo de las capas de dentina acumuladas en los dientes.....	23
Método directo.....	23
Conteo de capas de dentina para el análisis etario	23
RESULTADOS.....	28
AVISTAMIENTOS, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN, CARACTERÍSTICAS GRUPALES DE DELFINES EN VARADERO	28
RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA DE DELFINES EN EL ÁREA DE CAPTURA.....	38
Resultados del análisis de parámetros sanguíneos normales	38
Evaluación hematológica asociada a afecciones.....	46
Caracterización clínico-microbiológica de espiráculos	52
Diagnóstico serológico de brucelosis en delfines	54
Diagnóstico serológico de hepatitis en delfines.....	55
MODELACIÓN DE CRECIMIENTO DE DELFINES	58
Análisis morfométrico	58
Conteo de capas de dentina para el análisis etario	61
Análisis del crecimiento por el método de mediciones directas.....	67
DISCUSIÓN	71
AVISTAMIENTOS, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN, CARACTERÍSTICAS GRUPALES DE DELFINES EN VARADERO	71
EVALUACIÓN CLÍNICA DE DELFINES EN EL ÁREA DE CAPTURA.....	73
MODELACIÓN DE CRECIMIENTO DE DELFINES.....	78
CONCLUSIONES.....	81
RECOMENDACIONES.....	82
REFERENCIAS	83
ANEXOS	105

INTRODUCCIÓN

Los cetáceos forman parte del grupo más diverso y uno de los menos abundantes de vertebrados marinos. Dentro de ellos, el delfín *Tursiops truncatus*, conocido mundialmente como delfín nariz de botella y en Cuba como “tonina” (Varona, 1974), es la especie que se erige como la de uso más extensivo. El hábitat de muchas de sus poblaciones coincide con el radio de acción del hombre, con el que interactúa de varias formas incluyendo: intenso flujo de embarcaciones, actividad pesquera en general y, eventualmente, capturas accidentales o intencionales (López, 2007). Reynolds *et al.* (2000) menciona como los principales peligros que afectan a la especie a la muerte incidental por asfixia en redes de pesca, la degradación del hábitat debido a la alta carga de contaminantes, y la explotación de sus poblaciones sin previo conocimiento de la dinámica de las mismas, entre otras.

La mayoría de las investigaciones en la especie *T. truncatus* se han concentrado en el morfotipo costero, en hábitats estuarinos y bahías (Wells, 1991). Sin embargo, este morfotipo también se ha estudiado en zonas costeras expuestas, principalmente en el hemisferio norte, donde se ha detectado que suelen tener extensas áreas de distribución y patrones estacionales de residencia local (Defran *et al.*, 1999).

Un número de estudios alrededor del mundo (Estados Unidos, Escocia, Argentina y Australia) han demostrado que los delfines pueden ser residentes estacionales, o durante todo el año en áreas costeras particulares (Wells y Scott, 1999). En algunos casos puede ser muy difícil de comprender lo que constituye el rango de hábitat para un grupo de delfines. Parte del problema está dado porque no todas las comunidades de delfines son tan estacionarias o estables como la de Sarasota Bay (Wells, 1991). Los patrones de residencia estacional observados en algunas localidades, como las costas de Carolina (Hohn, 1997), significan que un rango de hábitat efectivo, o múltiples rangos de hábitat ligados por corredores, pueden abarcar de decenas a cientos de kilómetros de línea costera (Caldwell y Caldwell, 1972 y Reynolds *et al.*, 2000). En tales casos, la colaboración entre diferentes grupos de investigación puede complementarse para comprender qué hacen y cuanto se mueven los delfines en su medio natural.

Según Reynolds *et al.* (2000), las sociedades de delfines, debido a su categoría de fisión-fusión, se caracterizan por asociaciones fluidas a largo plazo y repetidas, más que

constantes en el tiempo. Este sistema social, por supuesto, no es desconocido en los primates, tales como los chimpancés y los humanos, en los que la mayor parte del día es dedicada a interactuar y reforzar relaciones de varios tipos con una variedad de individuos. La estructura social de diferentes poblaciones de toninas puede ser muy diversa, como resultado de la amplia diversidad de ambientes que ocupan. Una elevada diversidad social dentro de un grupo de mamíferos estrechamente relacionados, ha sido atribuida primariamente a las diferencias en los recursos alimentarios, las presiones de depredación y las características físicas del ambiente.

Los estudios de población y estimaciones de abundancia realizados con la especie *T. truncatus*, así como la caracterización genética y evaluaciones clínicas de sus poblaciones son sumamente importantes para establecer planes de manejo y cuotas de captura, y son cada vez más comunes debido a su importancia intrínseca principalmente por ser la especie con más demanda de captura para exhibición en todo el mundo (Barco *et al.* 1999, Ortega, 2000; Cortez *et al.*, 2000;). Este tipo de estudios se han realizado también en otras especies como el delfín de río del Amazonas *Sotalia fluviatilis* (Pizzorno *et al.*, 1998), la Vaquita *Phocoena sinus* (Rojas *et al.*, 2000), grandes cetáceos como la ballena azul *Balaenoptera musculus* (Gendron, 2000) e incluso varias especies de cetáceos al mismo tiempo en el Pacífico Este Tropical (Wade y Gerrodette, 1993); lo que constituye un buen ejemplo del interés por estudios de este tipo en especies de cetáceos, aún en aquellas no sujetas a explotación.

Tursiops truncatus es una especie polimórfica que muestra un amplio rango en su talla y forma corporal (Wells y Scott, 2002). Se conoce que la longitud total de la especie varía entre los 2 y los 3.8 metros en dependencia de la situación geográfica, pero esto parece variar inversamente a la temperatura del agua en muchas partes del mundo, excepto en el Pacífico oriental (Wells y Scott, 1999). Se conoce, además, que la especie puede o no exhibir dimorfismo sexual con respecto a la talla en las diferentes poblaciones. Por ejemplo, en Sarasota, Florida, se ha descrito que las hembras tienen un crecimiento ligeramente más rápido que los machos durante la primera década de vida mientras que estos últimos llegan a ser más robustos, pues alcanzan largos totales y diámetros corporales superiores en el estado adulto (Read *et al.*, 1993). Otros estudios en la especie pueden resultar contradictorios, pues no muestran diferencias entre los sexos con respecto a las variables morfométricas (Sergeant *et al.*, 1973; Romero y Delgado, 2015).

Inicialmente, los estudios fueron encaminados a la descripción morfológica de la especie, a la investigación de los ecotipos y a determinar el dimorfismo sexual de la especie (Hersh y Duffield, 1990; Scott *et al.*, 1990; Geraci y Lounsbury, 1993; Rowe y Dawson, 2009). Además se han relacionado los datos morfológicos disponibles con la edad de los animales muestreados (Cockcroft y Ross, 1988; Read *et al.*, 1993; Fernández y Hohn, 1998) y con la carga contaminante que portan durante su vida (Fair *et al.*, 2006; Stavros *et al.*, 2008; Schaefer *et al.*, 2011; Fair *et al.*, 2012). Actualmente una buena parte de los estudios morfológicos están dirigidos a aclarar aspectos taxonómicos y filogenéticos (Wang, 2001; Van Waerebeek *et al.*, 2007; Jedensjö *et al.* 2017).

La descripción de las características de la historia de vida de los miembros de una población permite cuantificar los factores que influyen o controlan su tamaño y sus patrones de cambio. De tal modo, las poblaciones pueden caracterizarse por su tamaño, que fluctúa con el tiempo (Wade 2002; Berta *et al.*, 2006). De esta manera, la investigación, determinación y documentación de las tasas de crecimiento de los delfines son esenciales para conocer la biología de la población y establecer planes de manejo y de conservación.

Un aspecto importante en el estudio de poblaciones naturales es la descripción de la estructura etaria. En el caso de los cetáceos, la edad puede determinarse de manera directa a través del monitoreo durante toda la vida del animal. Esto es posible solamente con el estudio de animales mantenidos en cautividad durante largos periodos de tiempo o cuando se poseen los recursos y la posibilidad de manipular delfines en vida libre durante varios años (Hohn *et al.*, 1989). También puede inferirse de manera indirecta empleando tejidos que manifiesten un crecimiento visible a través de capas. Los tejidos duros de origen epidérmico, especialmente los dientes que poseen deposición de capas de crecimiento en la dentina y el cemento; además la mandíbula y los huesos del oído interno son materiales ampliamente utilizados para la determinación de la edad (Perrin y Myrick, 1980). La validez de estos métodos ha sido probada en animales de historia de vida conocida (Hohn *et al., op.cit.*) tomando como referencia otros métodos como reportes de ovulación/gestación en las hembras y la aplicación de antibióticos como la tetraciclina que provoca marcas permanentes en tejidos duros. Se han dado muestras de la importancia del uso de las capas de crecimiento en estos tejidos para la detección de eventos en la historia de vida de los animales como el destete, maduración sexual, partos y posibles episodios de empobrecimiento nutricional y estrés ambiental (Manzanilla, 1989; Lockyer, 1993).

La evaluación del estado de salud de las poblaciones naturales no solo permite tener conocimiento de las principales enfermedades que afectan a los delfines, sino que constituye un indicador de la degradación del hábitat debido a los cambios antropogénicos (Scott *et al.*, 1990). Wells y Scott (2002) y Wells *et al.* (2004), basados en parámetros hematológicos de las poblaciones de Sarasota Bay, Florida; sugieren la implementación de un sistema de evaluación de salud integrado para las distintas regiones donde habita la especie. Es decir, sugieren analizar de manera complementada, tanto los resultados ecológicos como el análisis clínico que se pueda obtener para cada población. Los estudios hematológicos en delfines comenzaron con la búsqueda de las causas de algunas enfermedades que provocaban muertes masivas de estos cetáceos, por lo que se necesitaba la comparación con individuos sanos (Rhinehart *et al.*, 1992). Actualmente, los parámetros hematológicos son un elemento esencial en la evaluación de la salud de las poblaciones de cetáceos (Hansen *et al.*, 1996) no solo porque la sangre es un tejido que refleja el medio interno y la homeostasis del individuo, sino porque es capaz de acumular información referente a las condiciones ambientales. Se ha comprobado que los rangos normales de los parámetros sanguíneos difieren ligeramente entre las diferentes poblaciones e incluso con los delfines cautivos (Hall *et al.*, 2007).

Las poblaciones de mamíferos marinos están siendo cada vez más afectadas por la enfermedad y la exposición a contaminantes ambientales. La razón de este fenómeno no está clara, pero el cambio climático y el aumento de las actividades humanas en los océanos han sido implicados (Harvell *et al.*, 1999). Las causas y consecuencias de los ciclos de enfermedades y enfermedades en los ecosistemas marinos siguen siendo poco conocidas y requieren conjuntos de datos a largo plazo para investigar su dinámica (Altizer *et al.*, 2003). Los pocos estudios publicados sobre el seguimiento a largo plazo de los principales depredadores ilustran la importancia de estas investigaciones, destacando las enfermedades emergentes y que las que resurgen (Epstein, 1995; Daszak *et al.*, 2001; Godfroid *et al.*, 2005).

Los cambios en los niveles tróficos inferiores también se pueden detectar monitoreando los depredadores superiores que integran los efectos dentro de la cadena alimentaria. Los delfines nariz de botella se alimentan de una variedad de peces y, en algunas regiones, de especies de cefalópodos (Barros y Wells, 1998) y los cambios en la calidad y cantidad de los

alimentos se reflejarán en cambios en las condiciones y la salud de los depredadores (Thompson *et al.*, 1997).

Rangos normales para hematología y parámetros de bioquímica sérica de algunas especies de mamíferos marinos examinadas regularmente por veterinarios son reportados en la literatura (Rhinehart *et al.*, 1992; Bossart *et al.*, 2001, Hall *et al.*, 2007, Schwacke *et al.*, 2009). La mayor parte de estos estudios fueron realizados en las aguas del golfo de México.

El monitoreo de parámetros hematológicos resulta crucial en muchos aspectos: pues proporciona información de referencia para comparar con otras poblaciones, el establecimiento de una línea base de salud para la población de delfines, la detección temprana de cualquier tendencia significativa que pueda indicar un cambio en el estado de salud de la población de delfines y el estudio de los cambios en el perfil sanguíneo de un individuo a lo largo del tiempo. Es importante el estudio de la relación entre los parámetros sanguíneos con otras medidas de la salud y la condición de los delfines (Rhinehart *et al.*, 1992).

Cuando se estudian las enfermedades que afectan a las especies y sus poblaciones salvajes es importante profundizar en aquellas que afectan directamente el éxito reproductivo. Estas no solo atentan contra la supervivencia de la especie *per se*, sino que influye en la dinámica de sus poblaciones y, de manera indisoluble, en los planes de manejo. Estudios al respecto han incluido las evaluaciones de enfermedades emergentes, como las papilomatosis (Rehtanz *et al.*, 2005; Cruz, 2011) y la brucelosis (Brewet *et al.*, 2000).

La brucelosis es una enfermedad infecciosa considerada como una de las zoonosis más frecuentes del mundo, presentándose con mayor escala en los países mediterráneos de Europa y África, el Oriente Medio, América Central y América del Sur, Asia Central, la India, México y Cuba (Cloeckert *et al.*, 2003; Cutler *et al.*, 2005). El género *Brucella* es un patógeno bacteriano que afecta a varias especies de mamíferos terrestres y marinos, incluido el hombre. Se ha aislado de animales domésticos (bovinos, ovinos, caprinos, cerdos, canes) y de especies silvestres (renos, jabalíes, búfalos, camellos, zorros rojos, pequeños roedores). Desde 1994 se han descrito aislamientos de esta bacteria en mamíferos marinos como delfines, marsopas, ballenas y focas (Clavareau *et al.*, 1998; Sbriglio y Sbriglio, 2007). *Brucella ceti* produce una infección presente en varias especies

distintas, principalmente de delfines y tiene una distribución prácticamente mundial, siendo las costas del océano Atlántico Norte el área donde más casos se han detectado (Guzmán *et al.*, 2012). La bacteria se ha aislado de órganos reproductores, placenta y fetos abortados, sangre, lesiones cardíacas, cerebro y fluido cerebroespinal, lesiones articulares, pulmón, hígado y otros órganos. Se cree que puede causar aborto infeccioso, pérdida de la fertilidad, neurobrucelosis, endocarditis, lesiones óseas. Por ello, es muy probable que la brucelosis, una enfermedad crónica severa, sea una de las causas de la desorientación de estos mamíferos marinos y de sus varamientos en las costas (Nymoet *et al.*, 2011).

Aún se discute la vía de transmisión de la bacteria *Brucella ceti* en el mar, de un animal infectado a otro. Se sospecha que, como en otros mamíferos terrestres, se pueda transmitir por contacto sexual, de la madre al feto, a través de los tejidos del feto o la placenta o incluso por ingestión de otros peces contaminados. Aunque se ha atribuido algún caso aislado de brucelosis humana a este tipo de *Brucella* aislada de mamíferos marinos, la infectividad de *B. ceti* en humanos se considera baja (Guzmán *et al.*, 2012). En Cuba no se han realizado estudios serológicos sobre este particular.

El virus de la hepatitis E (VHE) por su parte es un virus de ARN de cadena positiva, miembro de la familia Hepeviridae y ampliamente distribuido en todo el mundo (Pérez-Gracia *et al.*, 2014). El reciente consenso taxonómico agrupó todos los aislamientos de VHE de mamíferos y aves en el género *Orthohepevirus*. La especie *Orthohepevirus A* se subdivide en 7 genotipos designados como VHE1 alVHE7. VHE1 y VHE2 están restringidos a seres humanos, VHE3 y VHE4 por su parte se encuentran en seres humanos y en otras especies animales (cerdos, ciervos, mangostas y conejos) y se consideran zoonóticos. Los genotipos VHE5 alVHE7 han sido aislados de jabalíes y dromedarios (VHE7) (Smith *et al.*, 2014).

En Cuba se han detectado dos genotipos de VHE: VHE1 en personas y VHE3 en cerdos y personas que trabajan en granjas de cerdos. Este hallazgo constituyó la primera evidencia para la transmisión zoonótica de VHE3 en la región (Montalvo *et al.*, 2008, 2013)

Varias fuentes ambientales se han asociado con la infección del VHE en animales, incluyendo el consumo de agua no tratada o subproductos de animales contaminados. En los cetáceos se han detectado hepatitis y niveles anormales de enzimas hepáticas, y se

atribuyen principalmente a trastornos metabólicos o autoinmunes, así como a parásitos o infecciones virales. Bossart *et al.* (1990) demostraron que un virus similar a la hepatitis B puede ser responsable de la inflamación hepática en cetáceos. Dotzauer *et al.* (1994) demostraron la susceptibilidad de las líneas celulares de delfines a la infección por el virus de la hepatitis A.

Los estudios de los delfines *Tursiops truncatus* en el medio natural, comenzaron en Cuba, de forma preliminar, en el año 1983 con una caracterización morfométrica de la especie (Blanco y Olaechea, 2000). En esta primera aproximación se detectaron diferencias morfométricas entre los delfines que habitan en Varadero, Isabela de Sagua y Caibarién, regiones pertenecientes al archipiélago de Sabana-Camagüey. Guevara *et al.* (2003) realizaron un estudio sobre los hallazgos patológicos y microbiológicos en delfines en vida libre procedentes de este archipiélago y en cautiverio. En este trabajo se concluyó que, para las poblaciones de delfines que habitan el área de estudio, las patologías que con mayor frecuencia inciden son las respiratorias y las digestivas.

En Cuba, la primera aproximación al conocimiento ecológico de las poblaciones del delfín *Tursiops truncatus* se realizó por Ziane-Cherif (1995), a través de una recopilación de testimonios sobre avistamientos en el archipiélago de Sabana-Camagüey y por Pérez-Cao (1996), con un estudio preliminar sobre variabilidad genética entre este archipiélago y el Golfo de Guacanayabo. Este último reporte arrojó un cierto grado de diferenciación entre las dos poblaciones. Entre 1998 y 1999 se realizaron prospecciones al área de Cayo Coco, hasta que en el año 2000 se llevó a cabo un estudio más abarcador y consistente (Cortez *et al.*, 2000). En este estudio no se pudo encontrar una población residente en el área y el valor de densidad obtenido fue 0,18 individuos/km². Los resultados se presentaron en las XXV y XXVI Reuniones Internacionales para el Estudio de los Mamíferos Marinos, SOMEMMA, 2000 y SOMEMMA, 2001, en México, así como en el V Congreso Internacional de Ciencias del Mar, celebrado en el año 2000.

Desde Junio del 2002 hasta Agosto del 2003 se realizó un trabajo similar pero en la región más occidental del archipiélago, que corresponde a la costa Norte de la provincia de Matanzas. En este estudio se determinó una densidad para el área de 1,28 individuos/km². Los resultados obtenidos tributaron al proyecto GEF/PNUD CUB/G32 titulado "Acciones prioritarias para consolidar la biodiversidad en el Ecosistema Sabana-Camagüey" y fueron

presentados en el VI Congreso de Ciencias del Mar 2003, bajo el título “Distribución y abundancia de delfines tonina *Tursiops truncatus* en la costa norte de Matanzas” (Pérez Cao, *et. al.*, 2003). Fue impartida una Conferencia Magistral sobre el tema en la 32 Reunión de la Sociedad Europea de Mamíferos Marinos, que recibió un reconocimiento por parte de dicha Asociación en Valencia, España, en marzo de ese mismo año. Pérez-Cao en el 2004 defendió su tesis de maestría en el Centro de Investigaciones Marinas de la Universidad de la Habana, titulada “Abundancia y distribución de la tonina *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) en dos áreas del archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba”. En esta tesis se realizó un análisis comparativo de los resultados obtenidos en los estudios realizados en el área de Matanzas y Cayo Coco.

A partir de la continuación del estudio en el área de Matanzas, aplicando la técnica de fotoidentificación principalmente y la técnica de marcaje y recaptura, se estimó el tamaño poblacional entre 100 y 200 delfines para un área efectiva de 140 Km². Estos resultados se presentaron en el VII evento internacional de Ciencias del Mar, celebrado en diciembre del 2006 en La Habana, y fueron parte de una tesis de maestría presentada bajo el título: “Estructura poblacional de delfines *Tursiops truncatus* en la costa norte de la provincia de Matanzas, Cuba”; en el año 2007 (López *et al.*, 2012).

A partir del segundo semestre del año 2009 se trabajó en la presentación de los resultados alcanzados en las tareas del proyecto en el XIII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar y XIII Congreso de Ciencias del Mar. Se reportó hasta ese momento el grado de residencia para 128 animales que hacen uso del área de Varadero en algún momento del año (López *et al.*, 2012). Se determinó además que la diversidad genética (número de alelos por locus) de los *loci* microsatélites en el archipiélago es relativamente elevada y no se evidenció estructuración poblacional estadísticamente significativa entre ninguna de esas localidades. Se obtuvo un primer estimado de curva de crecimiento para la especie en Cuba, validado por muestras de dientes de 38 delfines. La función exponencial propuesta en ese momento fue $\text{Longitud Total} = 172.956 + 51.194 \cdot \log_{10}(\text{Edad})$. Con respecto a la evaluación clínica de los delfines en la costa norte central se reportaron de manera preliminar los rangos normales de valores hematológicos para delfines *Tursiops truncatus*, evidenciándose un incremento en el tiempo de los valores de Urea en sangre. Por esta fecha, Álvarez *et al.* (2009) realizaron una primera incursión al estudio de la especie en la zona de Carahatas.

Una mayor profundización y alcance en los resultados obtenidos hasta el momento se presenta en el informe “Parámetros poblacionales y clínicos de delfines *Tursiops truncatus* que habitan en la costa norte central del archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba (López *et al.*, 2014). En esta oportunidad se amplía el estudio demográfico por primera vez a la Bahía de Santa Clara, donde se describen grupos de forrajeo más pequeños, y basado en las recapturas, se considera a la nueva zona parte del rango de hogar de las poblaciones de Varadero. Mediante el análisis genético de haplotipos se demostró la marcada diferenciación genética con las poblaciones de la costa sur del país (Golfo de Ana María y Guacanayabo), lo que sugiere un aislamiento demográfico entre estas poblaciones. Se identifica además la presencia de papillomavirus de tipo1 (TtPV-1) asociados a lesiones orogenitales en delfines por primera vez en Cuba y de la coinfección mixta con herpesvirus (gammaherpesvirus). Estos resultados fueron presentados como parte de una tesis de doctorado (Cruz, 2011) en el Congreso de Ciencias del Mar en el año 2015 y, además, publicados en revistas nacionales y extranjeras (Cruz y Barrera, 2011; Cruz *et al.*, 2013). Además, fueron cuantificados valores de mercurio (Hg) en sangre de *T.truncatus* en el rango de 18,19 – 452,48 µg/L. (Sánchez Campos *et al.*, 2015).

Los delfines han sido mantenidos en acuarios y zoológicos de todo el mundo por más de 140 años (Reynolds *et al.*, 2000). El mantenimiento de estas especies bajo condiciones controladas constituye una herramienta útil para los investigadores. Los principales estudios de delfines cautivos en el mundo se han enfocado en las capacidades cognoscitivas y de aprendizaje (Eisenberg, 1986; Herman, 2006), en las adaptaciones fisiológicas de estas especies al buceo (Morhi *et al.*, 1995), en el estudio de la ecolocalización y la comunicación (McCormick *et al.*, 1970; Caldwell y Caldwell, 1972; Reynolds *et al.* 2000), en la medicina (Dierauf y Gulland, 2001) y sobre la historia de vida (Romero y Delgado, 2015).

Aunque el Acuario Nacional de Cuba alberga esta especie dentro de sus colecciones vivas desde el año 1983, son escasos los estudios en los que se emplean delfines cautivos y se centran principalmente a las enfermedades que afectan a la especie (Guevara *et al.*, 2003; Cruz, 2011; Sánchez *et al.*, 2014) y a metodologías de entrenamiento (Expósito *et al.*, 2007; López, 2007); algunos de los cuales se han presentado en eventos internacionales (Martínez, 1998; Pérez *et al.*, 2006).

No obstante la cantidad de investigaciones llevadas a cabo sobre la especie, sumadas al estudio a largo plazo que por más de 15 años ha conducido el Acuario Nacional de Cuba de sus poblaciones en la costa norte del país, la información que se tiene es insuficiente y llena de lagunas; lo que hace necesaria la continuidad en esta empresa y el aporte de resultados más precisos.

OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Continuar la caracterización de parámetros poblacionales y clínicos de los delfines *Tursiops truncatus* que habitan en el archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Continuar el monitoreo de los delfines en la costa norte de la provincia de Matanzas y actualizar el catálogo de delfines de la región.
2. Monitorear los parámetros clínicos-poblacionales de la especie en vida libre que habitan en el área de captura (región central del archipiélago Sabana-Camagüey) profundizando en la prevalencia de enfermedades como la brucelosis y las hepatitis.
3. Modelar las curvas de crecimiento del delfín para aguas cubanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

AVISTAMIENTOS, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN, CARACTERÍSTICAS GRUPALES DE DELFINES EN VARADERO

Área de estudio

El estudio poblacional de los delfines se desarrolló en la porción más occidental del archipiélago de Sabana-Camagüey, desde la península de Hicacos hasta el cayo Cruz del Padre, al norte de la provincia de Matanzas, entre los 23°26'10" y los 23°18'00" latitud Norte, y entre los 81°18'00" y 80°52'00" longitud Oeste (Fig. 1). En el área se implementa un estudio a largo plazo pues se cuenta con una base de datos de los delfines presentes en ella desde el año 2002.

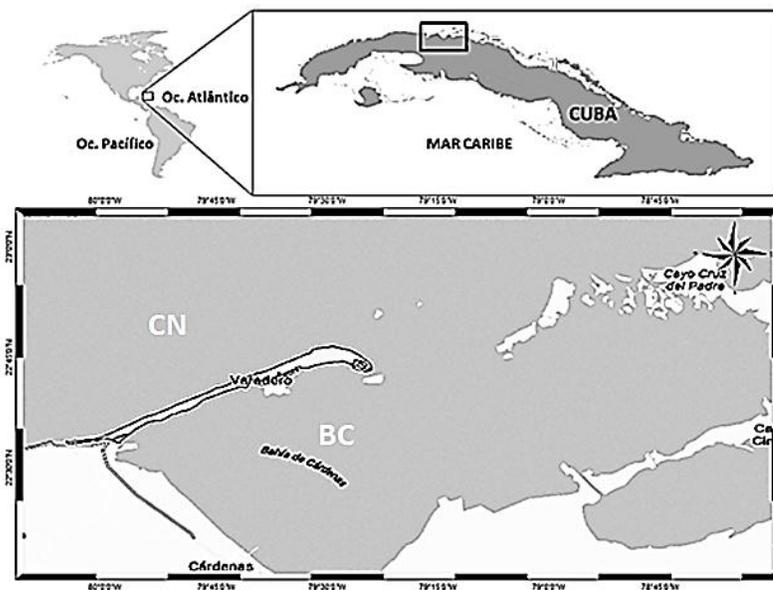


Figura 1: Ubicación del área de estudio de la población de delfines *Tursiops truncatus* en el archipiélago de Sabana - Camagüey, al norte de la provincia de Matanzas, Cuba.

En esta área los fondos marinos son del tipo arenoso-fangoso y fango-arenoso y predominan los pastos. En las lagunas interiores la elevada salinidad está por encima de las 35 o/oo y los ambientes se consideran de mesotróficos a eutróficos. El agua de la plataforma exterior se caracteriza por la oligotrofia y un predominio del transporte de partículas, la salinidad muestra valores mantenidos en unos 35-36 o/oo. La profundidad del

agua en las zonas recorridas varía entre los 2 y 30 m. Para una mejor evaluación de la distribución espacial de la población se divide el área de estudio en dos regiones: Costa Norte (CN) y Bahía de Cárdenas (BC), que difieren en sus características oceanográficas. Al ser esta última una zona interior de una bahía de circulación más restringida, mientras que la primera zona está directamente sometida al efecto de las corrientes más oceánicas.

Para toda la zona de estudio, el régimen pluviométrico se caracteriza por totales anuales entre 1000 y 1200 mm de lluvia, concentrada mayormente en los meses de mayo a octubre, período lluvioso del año. No obstante, debido a la influencia de los procesos frontales típicos de invierno, en la zona es mayor el volumen invernal de precipitación con relación a lo que caracteriza el comportamiento climático de tierra firme. De esta forma, del total anual de precipitación, en los meses del período menos lluvioso (noviembre-abril), cae hasta el 30 % de las lluvias anuales, o sea, entre 300 y 400 mm de lluvia.

Diseño del muestreo

Densidad poblacional, distribución y tamaño de grupos

Se realizaron dos salidas al área de estudio, de siete días cada una, en los meses de agosto de 2014 y octubre de 2015. Se utilizaron embarcaciones de poco calado y se navegó a una velocidad menor a 18 km/h (9,7 nudos). Los censos se realizaron en recorridos lineales dispuestos al azar, según lo dispuesto por la técnica de muestreo a distancia (Buckland *et al.*, 1993; Buckland y York, 2002;). Los delfines fueron buscados con binoculares (7-15 x 35 CF y 10 x 42 DCF HP) o a simple vista por cuatro personas simultáneamente.

En cada encuentro con delfines (avistamiento) se anotó la ubicación geográfica (GPS, Magellan, ± 30 m de precisión). Para definir los grupos se consideró a todos aquellos delfines, en asociación aparente, moviéndose en la misma dirección y usualmente inmersos en la misma actividad (Shane, 1990). Las crías fueron diferenciadas de los adultos al tener tallas iguales o menores a dos tercios de la talla del adulto acompañante. Para la diferenciación de los neonatos se tuvo en cuenta la presencia de surcos fetales y en caso de que éstos no fueran visibles, se consideró al menos tres de las siguientes características: la aleta dorsal flácida, la coloración muy oscura, talla menor de la mitad del adulto

acompañante o una natación superficial desordenada con flotabilidad extrema (Barco *et al.*, 1999; Defran y Weller, 1999).

Los valores de densidad de delfines fueron estimados multiplicando el número de animales durante los recorridos por un ancho de banda variable, calculada como el promedio de las distancias perpendiculares de avistamiento. El ancho de 0,2 km constituyó la distancia en la que ocurrió el 80 % de los avistamientos. Se intentó un muestreo espacialmente uniforme con el propósito de cubrir todas las partes del área de estudio en cada una de las salidas, sin embargo, la distribución del esfuerzo fue variable debido a la accesibilidad a cada zona y sus características. Las estimaciones de densidad se realizaron con la siguiente ecuación, propuesta por Hammond (1986) y modificada por Ortega (1996):

$$D = \frac{n}{Lb}$$

donde: D=densidad promedio (ind/km²);

n=número de individuos observados

L= Longitud total de transecto (km)

b=ancho de banda.

El ancho de banda asumido fue el promedio de las distancias perpendiculares de cada avistamiento (D_{pi}), según:

$$D_{pi} = \text{sen} \angle da$$

siendo: D_{pi} =Distancia perpendicular del avistamiento i;

\angle =Angulo formado entre la línea de transecto y el avistamiento i;

da=Distancia estimada entre la embarcación y el avistamiento i.

Para que el análisis de los resultados tuviera en cuenta la tendencia histórica se tuvo en cuenta la base de datos de un estudio previo, con similar método, obtenida en el área entre los años 2002 y 2014.

Fotoidentificación

Se tomaron las fotografías de las aletas dorsales de todos los individuos avistados, con vistas a su identificación individual (fotoidentificación) y para incrementar el catálogo previo de los individuos avistados en el área. En dependencia del tamaño del grupo de delfines, en la toma de fotografías participaron entre dos y tres personas, y se utilizaron tres cámaras Nikon D200. El análisis de las imágenes obtenidas siguió la técnica descrita por Wells *et al.* (1996). Se depuró el material fotográfico y se conservaron sólo las fotografías más nítidas.

Estas fueron clasificadas según la codificación propuesta por Wells *et al.* (1996) y comparadas visualmente empleando el programa *ACDSee Pro 5*. Las aletas que coincidían en el número y ubicación de las marcas identificatorias en las aletas, se superponían en capas semitransparentes en *Adobe Photoshop* versión 8.0, para corroborar su identidad. Posteriormente, se procedió a la elaboración del catálogo fotográfico del área, constituido solo por los delfines vistos únicamente en ella. Aquellos que también se han observado en otras áreas fueron anotados en la base de datos y anexados al catálogo fotográfico existente.

Las diferencias estadísticas en las densidades de delfines entre las subzonas escogidas para el muestreo se evaluaron por medio de pruebas de Kruskal Wallis y post hoc por rangos, dado la ausencia de normalidad, requisito para pruebas paramétricas. Estos análisis se desarrollaron en el programa *Statistica v8.0*.

Para analizar los patrones de asociaciones (coexistencias o co-ocurrencias) entre los individuos fotoidentificados en la zona de Varadero se empleó el índice Puntaje C de Stone y Roberts (1990). El Puntaje C es un indicador de interacciones negativas que producen la tendencia entre individuos a no aparecer simultáneamente en el mismo avistamiento por lo que puede ser considerado un índice de distancia. Al producir una matriz de distancias entre todos los individuos reavistados, esta fue representada por medio de un escalado multidimensional no métrico que permite visualizar mejor en un espacio de ordenamiento bidimensional las relaciones entre todos los individuos. La desviación del patrón observado en comparación con un patrón aleatorio se evaluó mediante un análisis basado en modelos nulos (Gotelli y Graves, 1996). Para ello se empleó el programa *Ecosim v7*, que utiliza aleatorizaciones de Montecarlo para crear seudomatrices y compara estadísticamente los

patrones de coexistencias en estas matrices aleatorias con los encontrados en las matrices reales. Este programa calcula las probabilidades tabulando la cantidad de veces que el índice observado es mayor que los calculados en 10000 aleatorizaciones de la matriz original. Para el análisis en este caso se emplearon dos enfoques: la distribución de puntajes C entre todos los individuos de delfines reavistados más de dos veces y la distribución de puntajes restringida a los individuos avistados con mayor frecuencia (más de 8 ocasiones).

EVALUACIÓN CLÍNICA DE DELFINES EN EL ÁREA DE CAPTURA

Área de muestreo para la evaluación clínica

El área de muestreo para la toma de datos sobre el estado de salud de las poblaciones de delfines se encuentra situada en la región central del archipiélago de Sabana – Camagüey (Fig. 2). Este archipiélago comprende un área aproximada de 3.414 km². Su límite norte está formado por una franja de más de 2.517 islotes, que se distribuyen fundamentalmente en el borde de la plataforma costera y que representan el 60% de las islas de todo el archipiélago cubano.

Al sur de estos islotes se extiende un conjunto de cuerpos de aguas de poca profundidad que conforman un área litoral segmentada en bahías (Alcolado *et al.*, 1999, Montalvo *et al.*, 2013). El área de estudio, dentro de esta región, se ubicó desde la localidad Isabela de Sagua (22°56' N, 80°14' W) hasta Punta Alegre y (22° 23'N, 78°46'W).

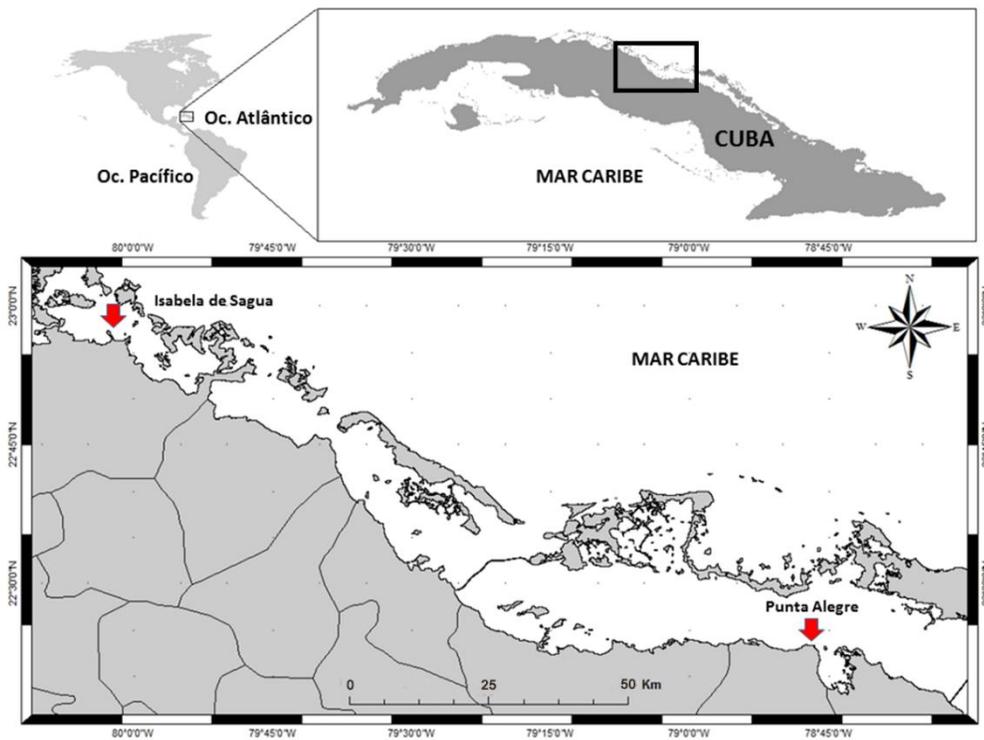


Figura 2: Ubicación del área de estudio para la evaluación clínica de la población de delfines *Tursiops truncatus* en el archipiélago de Sabana – Camagüey.

Método para la caracterización clínica

Para la evaluación clínica de la población de delfines en el área de captura fueron manipulados un total de 46 nuevos delfines (21 hembras y 25 machos), capturados en distintos puntos de la zona de estudio entre los años 2014 y 2016. Todos los especímenes fueron manipulados por médicos veterinarios y biólogos autorizados del Acuario Nacional de Cuba, de acuerdo con el protocolo *NOS NCCOS 49* de la *NOAA* para la manipulación de delfines en el medio natural (Wells *et al.*, 2004; Fair *et al.*, 2006). A estos animales se les realizaron un total de 102 chequeos clínicos. En cada chequeo se emplearon varios métodos diagnósticos para la detección de diferentes signos y sintomatologías. Con base en los resultados, los delfines fueron clasificados luego de cada chequeo como asintomáticos o sintomáticos.

En el caso de las patologías digestivas se tuvo en cuenta la presencia de gingivitis, aftas o cualquier lesión bucal que pudiera ser de origen digestivo o la presencia de sangre en los fluidos gástricos, mediante intubación con una sonda gástrica de diámetro interior 12 mm.

Con el objetivo de detectar signos de enfermedades en el sistema respiratorio se realizó la auscultación de cada individuo manipulado y se observó la presencia o no de secreciones en el espiráculo. Además, fueron tomadas muestras citológicas de esta estructura a través de la ubicación de un portaobjeto a cinco centímetros de la apertura respiratoria durante la expiración del animal. La fijación de las muestras tomadas se realizó con metanol en forma de aerosol. Posteriormente, fueron teñidas con azul de metileno y observadas a través de un microscopio clínico con aumento de 40x.

Las enfermedades reproductivas se fueron detectadas por revisión de la zona genital o por sondeo urinario con sondas infantiles. Otras enfermedades son detectadas durante los análisis de los hemogramas y la hemoquímica como las hepatitis, problemas cardiacos y aquellas infecciones serias se procedían a aislar e identificar los patógenos con sus cultivos específicos.

A cada delfín se le extrajeron 12 ml de sangre de la vena principal de la red venosa periarterial de la aleta caudal. Para esto se emplearon agujas de perfusión con aletas G21 y jeringuillas de 10 o 20 ml. Las tomas de muestras de sangre se realizaron en todos los casos empleando material estéril. Para la determinación de los parámetros del hemograma se emplearon tubos colectores de la firma *EUROTUBO* con una solución anticoagulante de K3 EDTA de 2,5 ml y para los análisis del suero se emplearon otros tubos con perlas aceleradoras de coagulación de 5ml del mismo fabricante.

Los parámetros del hemograma se obtuvieron utilizando un contador de partículas de modelo ABX Micros ESV 60 de la firma *Horiba Medicals* calibrado para la sangre de delfín. El diferencial de glóbulos blancos fue determinado también por conteo visual de extensiones de muestras de sangre sobre portaobjetos, fijadas previamente con etanol y teñida empleando un set de tinción rápida de dos colorantes (eosina y azul de metileno) de la firma *Deltalab*. Estas láminas fueron observadas empleando un microscopio óptico *Motic* modelo BA210 a un aumento de 1000X. Para la determinación de los parámetros hemoquímicos por su parte, se obtuvo el suero centrifugando la muestra de sangre a 7000 rpm durante cuatro

minutos en una centrífuga *Baby I* de la marca *Fanem* modelo 206. Luego se utilizó un espectrofotómetro *Reflotron Plus* de la firma *Roche*, con tiras de pruebas del mismo fabricante que requerían 32 µl de suero cada una.

Se determinaron un total de 24 parámetros sanguíneos: 8 del hemograma y 16 de la química del suero. Los parámetros sanguíneos determinados en los hemogramas fueron:

- Hemoglobina (Hb)
- Hematocrito (Ht)
- Eritrocitos (Eri)
- Conteo total de leucocitos (Leu)

Estos últimos fueron agrupados en el diferencial en:

- Neutrófilos (Neut)
- Linfocitos (Linf)
- Eosinófilos (Eos)
- Monocitos (Mono)

Se determinaron los valores en suero, como parámetros hemoquímicos:

- Glucosa (Glu)
- Creatinina (Crea)
- Ácido úrico (AU)
- Proteínas totales (PT)
- Colesterol (Col)
- Fosfatasa alcalina (Fosf. Alc)
- Triglicéridos (TG)
- Potasio (K)
- Creatin-quinasa (CK)
- Urea
- Bilirrubina (Bil)
- Hierro sérico (Fe)
- Amilasa pancreática (Amil)
- Alanina-aminotransferasa (GTP o ALAT)
- Aspartato-aminotransferasa (TGO o ASAT)
- Glutamyl-transferasa (GGT)
- Progesterona (Prog) (en las muestras de delfines hembras).

Estos parámetros son un reflejo del estado nutricional del organismo y de la actividad de órganos vitales como el corazón, hígado, riñón y músculos (Bossart y Dierauf, 1990). Todos estos datos fueron tabulados y se adicionaron a la base de datos de sangre de delfines del ANC, que incluye un total de 1945 chequeos realizados a 386 delfines (205 hembras y 181 machos) desde el año 2000.

A cada uno de los parámetros sanguíneos se les calcularon los estadísticos de media y dispersión. Como la mayoría de las variables no cumplieron con el requisito estadístico de normalidad en su distribución, según se comprobó con la prueba de Kolmogorov Smirnov (K-S), se compararon los valores entre los sexos con una prueba U de Mann-Whitney. Luego se realizó un análisis de las asociaciones entre parámetros a través de matrices de correlación de Spearman. Para el ordenamiento de los individuos según sus parámetros hematológicos se realizó un escalado multidimensional nométrico, a partir del cual se identificaron las zonas de máxima probabilidad con una función Kernel (parámetro de extensión de 0.05). Se seleccionaron los 77 individuos que quedaron ubicados en la zona central, más densa, del ordenamiento con 0.83 de probabilidad para extraer los valores normales para la especie. Estos análisis se realizaron con los programas *Statistica* 8.0 y *Past* 3.0.

Caracterización clínico-microbiológica del sistema respiratorio

Entre los años 2012 y 2016 se realizaron exudados de espiráculos en 46 delfines toninas (18 hembras y 28 machos) provenientes todos del medio natural. Se utilizaron hisopos estériles para tomar las muestras directamente del espiráculo de los animales según las metodologías descritas por Dunn *et al.* (2001).

Inmediatamente, fueron transportadas en medio *Stuart (Deltalab)* para su posterior análisis en el laboratorio de microbiología del Jardín Zoológico de La Habana. El procesamiento de las mismas se realizó utilizándose los criterios de Taylor (1996) y para estudios de agentes micológicos, fueron sembradas e incubadas a temperatura ambiente en los siguientes medios, según el Centro Nacional de Biopreparado (*BIOCEN*) de Cuba:

- Agar Sangre base suplementado con agua de mar y sangre equina al 10%,
- Agar Sangre base con sangre equina al 10%,
- Agar McConkey suplementado con agua de mar,

- Agar McConkey suplementado sin agua de mar,
- Medio semisólido de Tioglycollate-Brewer semisólido,
- Agar Dextrosa de Sabouraud con antibiótico (gentamicina y cloranfenicol)

Para el estudio bacteriológico, las muestras se incubaron a 36,5°C realizándose lecturas a las 24, 48 y 72 horas. En el caso de las siembras para hongos las lecturas se hicieron de forma diaria hasta los 14 días. Los microorganismos aislados se clasificaron aplicando las pruebas bioquímicas y de cultivo, descritas por Bisping y Amtsberg (1988); Carter (1985); Sonnenwirth y Jarret (1983) y Mac Faddin (1980).

Los datos fueron manejados y procesados a partir de tablas de distribución de frecuencias, en hojas de cálculo de *Microsoft Excel*.

Diagnóstico serológico de brucelosis en delfines

Se procesó un total de 140 muestras de delfines (77 hembras y 63 machos) capturados en el periodo 2001–2017 en el laboratorio de diagnóstico de brucelosis del Centro de Investigaciones de la Defensa Civil. Las muestras se analizaron con los ensayos convencionales para el diagnóstico de esta enfermedad en mamíferos terrestres, descritos por Díaz *et al.* (2015). Se aplicaron, para cada muestra de suero, como métodos de pesquisa el de Rosa Bengala (RB) y la Seroaglutinación Lenta (SAL) y como ensayo confirmatorio el 2Mercaptoetanol(2ME). Solo para los casos positivos se aplicó la prueba de reacción de fijación de complemento (RFC). En estas pruebas se empleó el antígeno natural de *Brucella abortus* cepa 99, pues como *B. maris*, son cepas lisas y deben brindar una respuesta inmunológica similar. Cada prueba se consideró negativa si solo aparecía la línea de control, y positiva cuando aparecían la línea control y la de prueba.

Diagnóstico serológico de hepatitis en delfines

Se analizaron muestras de suero de 31 (14 hembras y 17 machos) delfines en el periodo comprendido entre diciembre de 2007 y junio de 2014. Algunos de los animales mostraban síntomas de comportamientos anormales incluyendo letargo y anorexia. También se detectaron concentraciones elevadas de alanina sérica (TGP). En 12 de 17 delfines, los sueros se parearon con muestras de 8 meses antes del inicio de la enfermedad aguda. En este grupo de animales, 1 delfín murió y se recogió una muestra de hígado para intentar

aislar el virus. Además, se recogieron muestras de suero de humanos ($n = 32$) que trabajaron en contacto cercano con delfines (cuidadores, entrenadores y veterinarios). Hasta el momento del estudio, ningún ser humano mostró evidencia de enfermedad clínica, incluida la hepatitis aguda (Ética institucional-Código de Comité CIE-IPK-LVH1/ 2007).

ELISA para la detección de anticuerpos séricos contra VHE

Se utilizó un ELISA, adquirido de *Genelabs Diagnostics*, para detectar inmunoglobulina total (Ig) anti-VHE en sueros recolectados de delfines y humanos que trabajan en contacto directo con delfines. Este inmunoensayo se basa en el formato sándwich de doble antígeno VHE para la detección de anticuerpos totales (IgM, IgG, IgA) y detecta anticuerpos contra el VHE de todos los genotipos conocidos. La prueba es independiente de las especies.

El punto de corte (CO) del ensayo se determinó calculando la media de las densidades ópticas (OD) de tres sueros control negativo más 0,2. Las muestras por encima de estos valores se consideraron positivas. Las muestras positivas de la primera prueba se confirmaron repitiendo la misma prueba por duplicado. Los sueros con una relación OD: CO ≥ 1 se consideraron positivos. La especificidad de este ELISA se consideró 98,8%, mientras que los valores predictivos positivos y negativos para la prueba fueron 98,1 y 100%, respectivamente (Hu *et al.*, 2008).

RT-PCR anidada, no. de acceso a la secuencia de nucleótidos y análisis filogenético

Todas las muestras de suero obtenidas de delfines con signos clínicos y elevadas enzimas TGP ($n=31$) y trabajadores ($n=32$) fueron analizadas para ARN de VHE por RT-PCR anidada (nRT-PCR). Además, también se probó una suspensión hepática obtenida de un delfín muerto en 2007. El ARN se extrajo de 200 μ l de suero y homogeneizado de hígado usando QIAamp Viral ARN Mini Kit (QIAGEN). Se realizó un nRT-PCR previamente descrito (Zhai *et al.*, 2006) usando cebadores específicos que amplificaron un fragmento de la región de lectura abierta 1 (ORF1), ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp). Se purificaron los productos de PCR y se seleccionaron fragmentos de ADN a una concentración de $> 50 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1}$ (protocolo GenomeLab DTCS_Quick Start) para la secuenciación. Las secuencias de nucleótidos parciales de RdRp de VHE se sometieron a GenBank, y se asignaron los números de acceso KM065571 y KP096349. Estas dos secuencias se compararon con 25

secuencias de nucleótidos VHE (RdRp) depositadas en la base de datos *GenBank* (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide).

El análisis filogenético se realizó utilizando el software MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013). Para cada ensayo de nRT-PCR, se incluyeron controles negativos (sin control de plantilla) y positivos (VHE pSK-VHE de longitud completa) (Emerson *et al.*, 2001). La sensibilidad de la nRT-PCR fue 102 copias ml⁻¹. Este ensayo se evaluó como una técnica *in vitro* utilizando un transcrito *in vitro* de un clon de longitud completa del genotipo 1 pSK-VHE diluido de 109 a 100 copias ml⁻¹ y utilizado para la cuantificación.

Propagación de virus en cultivo celular

Se usaron células de cáncer de pulmón humano (A549, ATCC N° CRL-8024, *American Type Culture Collection*) para el aislamiento de VHE a partir de muestras de suero recogidas de delfines (Takahashi *et al.*, 2012) siguiendo procedimientos estándar de cultivo de tejidos. Se realizó RT-PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) para determinar los títulos de VHE (Jothikumar *et al.*, 2006). Se seleccionaron muestras de suero positivas para nRT-PCR con cargas virales de VHE $\geq 1.50 \times 10^4$ copias ml⁻¹ y se inocularon en células A549. La extracción de ARN del sobrenadante de cultivo (200 μ l) se realizó para cuantificar VHE a 4, 7 y 24 días post-infección (dpi). Este ensayo de qRT-PCR puede detectar los genotipos VHE 1 a 4 y los títulos de VHE equivalentes del genoma se determinaron basándose en la curva estándar generada con concentraciones de 109 a 100 copias ml⁻¹ del clon de longitud completa de transcripción *in vitro* del genotipo 1 pSK-VHE. El límite de detección de este ensayo es de 4 copias equivalentes de genoma ml⁻¹ (Jothikumar *et al.*, 2006).

MODELACIÓN DE CRECIMIENTO DE DELFINES

La dinámica de crecimiento de los delfines fue descrita por dos métodos alternativos. El primero de ellos, fue empleando datos de medidas corporales directas, tomadas sobre los animales capturados y por eso es referido como “método directo” y el segundo o Método indirecto, a partir del conteo de las capas de dentina acumuladas en los dientes.

Método directo

Fueron procesadas medidas corporales tomadas a 20 ejemplares de delfines *Tursiops truncatus* (17 hembras y 3 machos) en el período comprendido desde el año 2000 hasta el 2017. Se seleccionaron estos animales pues se mantuvieron en cautiverio un tiempo superior a un año con lo cual se pudo obtener, al menos, un par de mediciones de cada uno.

Para las determinaciones de la tasa de crecimiento se utilizaron tres mediciones: el Largo Total (LT); el Ancho de la Aleta Caudal (AAC) y el largo de aleta pectoral, medido en dos componentes: la longitud del borde exterior hasta la punta de la aleta pectoral (BE); y la del borde interior hasta la punta de la aleta pectoral (BI). Para el largo total fue tomada la línea recta, por la parte ventral de los delfines, desde la punta del *rostrum* hasta la escotadura que separa los lóbulos de la aleta caudal. Para el ancho de aleta caudal se tomó la distancia entre las puntas de los lóbulos de la caudal. Se empleó en todos los casos una cinta métrica plástica flexible con 1 cm de error.

Conteo de capas de dentina para el análisis etario

Para este estudio se utilizaron datos recolectados de un diente extraído de 58 delfines (24 hembras y 34 machos) capturados y contenidos temporalmente, entre los años 2007 y 2016. Este diente, en cada individuo, fue extraído de los alvéolos de las posiciones 13, 14 o 15 en el maxilar inferior derecho, siguiendo el procedimiento descrito por Ridgway *et al.* (1975) y Hohn *et al.* (1989).

La determinación de la edad de los especímenes fue realizada a través del método de corte fino, según lo descrito por Hohn *et al.* (1989) y Evans *et al.* (2007) para *T. truncatus* con algunas modificaciones. Para facilitar la descalcificación, los dientes se desgastaron longitudinalmente, por ambos lados en su plano sagital, obteniéndose una sección central de entre 3 y 4 mm de espesor. La descalcificación posterior fue realizada con RDO (agente

comercial de descalcificación rápida) por un período que varía entre 3 y 17 horas, dependiendo del tamaño y densidad ósea de la pieza dental.

Una vez descalcificados, los dientes fueron cortados longitudinalmente en secciones de 20 a 30 μm espesor, en un micrótopo manual con accesorio para congelación. Diez de estas secciones, pertenecientes al eje central de cada diente, fueron cortadas con hematoxilina de Harris por un período de tiempo de entre 7 y 10 min, posteriormente "azuladas" en una solución débil de amoníaco (2%) durante 30 segundos y finalmente se montaron en bálsamo de Canadá. El mejor corte histológico de cada diente fue seleccionado según el grado de apertura de la cavidad pulpar, la orientación del eje central y la definición de las capas de crecimiento de dentina (GLC), para ser fotografiado y leído posteriormente.

Las fotografías se realizaron en un microscopio-estereoscopio binocular *Leica* con cámara digital acoplada, a través del programa SAS v4.8. El aumento máximo utilizado fue de 4,5x y escala fijada a 1 mm. Las fotografías de cada área observada del corte se unieron al programa *Imagen Composite Editor v2.0.3.0* (*Microsoft Corporation*, 2015) para obtener una imagen integral de cada diente (Fig. 3).

Posteriormente, los GLC presentes en la dentina y/o en el cemento fueron observados y contados, para determinar la edad cronológica de cada animal. La lectura de las capas se realizó a ciegas (sin tener información previa del sexo y LT), y por separado por tres especialistas. Se asumió en la cuenta la equivalencia de un GLC con un año de vida para la especie *T. truncatus* (Hohn, 1980). La edad final se determinó a partir de la coincidencia de al menos dos de las tres lecturas iniciales. En el caso de no coincidir y las diferencias entre las lecturas ser menor de tres años, una lectura posterior en conjunto fue realizada teniendo en cuenta las características del individuo. Con una diferencia mayor el diente fue descartado.



Figura 3: Fotografía del procesamiento de extracción de los dientes y su procesado según el método de corte fino, para la evaluación de la edad y el crecimiento de los delfines.

Además, de cada individuo manipulado se realizaron mediciones de la longitud total (LT) y de la circunferencia máxima del tórax (CT). El LT fue medido en línea recta, a 0,5 cm de la punta de la mandíbula superior hasta la muesca caudal, según Norris y Prescott (1961). Para la obtención de la circunferencia máxima (CT), la medición se realizó a 0,5 cm de la inserción anterior de la aleta dorsal. De cada espécimen se registró el sexo, la fecha y lugar de captura (o recaptura). Todos los especímenes empleados en este estudio fueron liberados en el mismo lugar de su captura.

Análisis de los datos de crecimiento

Los datos morfométricos tomados en años consecutivos fueron empleados para el cálculo de las tasas instantáneas de crecimiento (incremento por año). Se siguió el procedimiento de Ricklefs (1969) para la extracción de curvas de crecimiento (edad vs medida) a partir de un estudio transversal y medidas consecutivas (medida 1 vs medida 2).

A fin de determinar los parámetros y la ecuación que mejor describen el crecimiento del grupo poblacional analizadose hicieron regresiones no lineales ajustadas a los valores de

edad obtenidos en cada método (Read *et al.*, 1993) y las medidas LT y CT. En este sentido, los modelos de crecimiento de Gompertz y de Von Bertalanffy han sido los más frecuentemente utilizados en el análisis del crecimiento de esta especie (Fernández y Hohn, 1998; Stolen *et al.*, 2002, Karem *et al.*, 2013; Goldin y Gladilina, 2015). Se incluyó también el modelo generalizado de Richards (1959) de cuatro parámetros, que tiene mayor flexibilidad e incluye como casos particulares a los dos anteriores.

La ecuación de Gompertz se utilizó en la siguiente forma:

$$L_t = L_\infty * e^{-be^{-kt}} \text{ (Laird, 1966),}$$

Dónde: Lt = Longitud en el tiempo t,

L ∞ = longitud asintótica,

b = constante de integración,

... siendo b = G/g (tasa de crecimiento absoluto o inicial entre la tasa de desaceleración del crecimiento). La variable kes conocida como constante de crecimiento (Laird, 1966; Stolen *et al.* 2002). La curva puede ser ajustada si la edad o la longitud son conocidos y la asíntota puede ser estimada. El tiempo t va a ser expresado en años, con t al nacer = 0.

La ecuación del modelo de von Bertalanffy fue usada como la siguiente expresión:

$$L_t = L_\infty (1 - e^{-kt}) \text{ (von Bertalanffy 1938),}$$

Dónde: Lt = longitud en el tiempo t,

L ∞ = edad asintótica y...

k = constante de crecimiento.

La curva de Richard (1959) incluye un parámetro de forma adicional para lidiar con situaciones de curvas no simétricas, que cambia la ubicación del punto de inflexión. La ecuación es la siguiente:

$$l_t = L_\infty \left[1 + (\delta - 1)e^{-k(t-\gamma)} \right]^{1/(1-\delta)}$$

Dónde: l_t = largo en el tiempo t

L_∞ : asíntota superior (valor adulto)

K : tasa de crecimiento

γ : ubicación del punto de inflexión en X , calculado como:

$$\gamma = \frac{L_\infty}{\delta / (1 - \delta)}$$

$\delta \neq 1$: parámetro de forma, que determina la ubicación del punto de inflexión en Y .

Cuando δ es -1, la ecuación se reduce a la de von Bertalanffy, cuando es 1 es una ecuación logística y cuando es 0 es la curva de Gompertz.

Todos los modelos fueron empleados para determinar cuál explicaría mejor la relación edad–dimensiones, en ambos sexos de la especie. Por el estrés que genera la manipulación de individuos muy jóvenes en el medio natural, en estos análisis no se incluyeron individuos con un CT por debajo del rango de 170-180 cm. Además, para *T.truncatus* se ha sugerido que la mitad inicial del primer año de vida corresponde a una fase de crecimiento diferente con sus propios parámetros (McFee *et al.*, 2010, Neuenhoff *et al.*, 2011). Las curvas desarrolladas se fijaron para una edad inicial de dos años. También un análisis descriptivo de los datos fue realizado a fin de determinar la composición de edades de la población así como posibles diferencias de edad entre los sexos y el CT entre franjas etarias. Todos los análisis fueron realizados a través de los programas *PAST v3.2*, *Statistica 8.0* y *CurveExpert 1.3*.

RESULTADOS

AVISTAMIENTOS, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN, CARACTERÍSTICAS GRUPALES DE DELFINES EN VARADERO

Durante las dos salidas de campo realizadas se observaron 43 delfines, en 8 grupos (Tabla 1). Aunque no se realizó un esfuerzo de muestreo equitativo entre las zonas limitadas dentro del área, se puede afirmar que no existe una relación aparente entre el esfuerzo de búsqueda y los avistamientos realizados (Fig. 3). Estos datos se adicionaron a la base de avistamientos en Varadero de la institución y se analizaron en conjunto. Desde el año 2002 se han avistado en la zona Norte de Varadero un total de 1228 individuos agrupados en 170 unidades grupales.

Tabla 1: Esfuerzo de muestreo por expediciones y resultado de los avistamientos de delfines *T. truncatus* en Varadero, Cuba, agosto de 2014 y octubre de 2015.

AÑO	SALIDAS	DISTANCIA RECORRIDA (KM)	TIEMPO DE NAVEGACIÓN (H:M)	NO. DE GRUPOS AVISTADOS	NO. DE DELFINES OBSERVADOS
2014	Agosto	167,98	13:22	3	8
2015	Octubre	224,09	27:39	5	35
Total		392.07	41:01	8	43

La figura 4 muestra el comportamiento por los años de la cantidad de avistamientos y de delfines contados. Como se puede apreciar la mayor cantidad de encuentros tuvo lugar en los años 2002-2003 y 2008-2010 que coincidieron con periodos en los que se realizó un mayor esfuerzo de muestreo que incluyeron hasta cinco salidas por año.

La distancia lineal desde la embarcación hacia los grupos fue de 114.3 ± 124.5 m, con ángulos entre 0° y 230° . El hecho de lograr que la mayoría de los avistamientos ocurriera hacia el frente de la nave (Fig. 5) permite corroborar la eficiencia de la detección de los delfines empleando el método descrito anteriormente y utilizando en todos los casos cuatro especialistas observando a la misma vez. Sin dudas, esto permite abarcar una mayor área de muestreo al mismo tiempo. La distancia perpendicular media hacia los delfines

observados varió entre 1 y 400 m, con una media de 260 ± 5 m. Estos valores son los empleados para la estimación de las densidades en la zona.

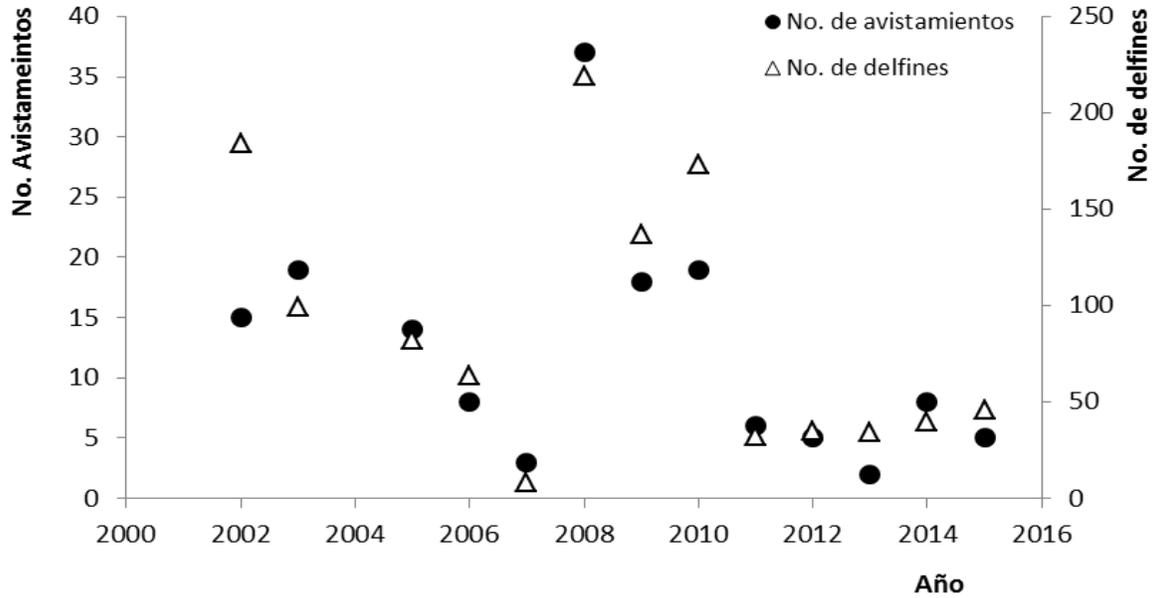


Figura 4: Cantidades de avistamientos y de individuos de delfines avistados entre años en la zona del norte de Matanzas, Cuba.

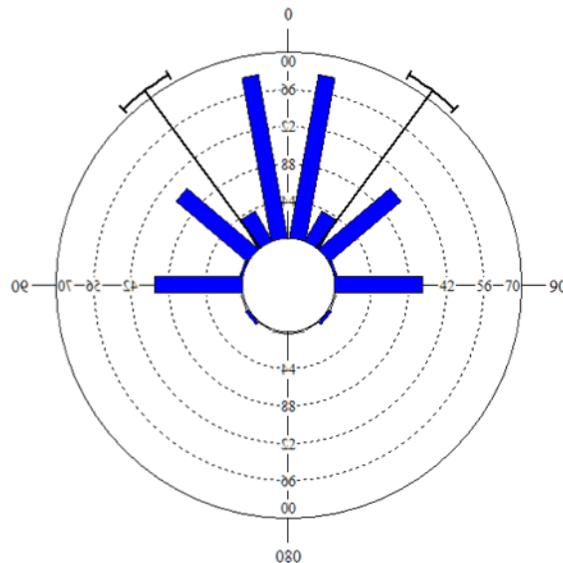


Figura 5: Distribución angular de las direcciones de los avistamientos de delfines en la zona del norte de Matanzas, Cuba.

Al georreferenciar todos los datos de los avistamientos y representarlos, el Kernel de densidad permite observar las áreas donde se ha concentrado la mayor cantidad de grupos y delfines los 15 años de estudio de esta zona (Fig. 6).

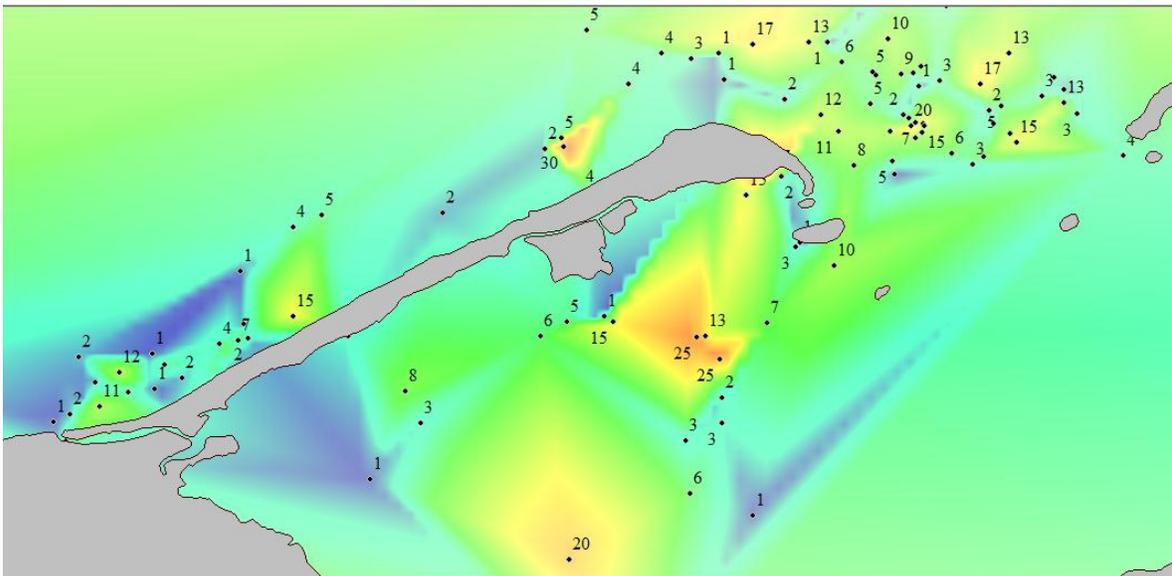


Figura 6: Distribución de los avistamientos de grupos de delfines en la costa norte de Matanzas, Cuba. Los números indican el tamaño del grupo y los colores reflejan la función kernel de interpolación, desde rojo (máxima densidad) hasta azul (mínima densidad).

Como se pueden observar, las áreas de mayor presencia de individuos han sido en la subzona Costa Norte, fundamentalmente en la región del canal de entrada a la Bahía de Cárdenas, entre Punta Hicacos y los Cayos Piedra, Blancos y Romero. Por su parte, en la subzona de Bahía de Cárdenas la mayor presencia de individuos se avistó al sur de Punta Hicacos, especialmente en las bocas de las Marinas Chapelin y Gaviota. Estas zonas coinciden con las de mayor tránsito de embarcaciones del poloturístico.

No se encontraron correlaciones significativas entre ninguno de los parámetros físico químicos del agua con la presencia de individuos (Tabla 2) para un nivel de significación del 5 %.

Tabla 2: Valores de los índices de correlaciones entre las variables oceanográficas medidas y las densidades de grupos y delfines avistados. Los asteriscos indican las correlaciones significativas para $p < 0,05$.

VARIABLES	S	P	Delfines avistados	Densidad individuos	Densidad grupos
Temperatura	-0.39*	-0.04	0.03	0.05	0.039
Salinidad		-0.02	0.15	0.12	-0.07
Profundidad			-0.11	-0.11	-0.14
No. delfines avistados				0.36*	0.04
Densidad de individuos					0.81*

Los tamaños de grupos promedios en los avistamientos fue de $7,22 \pm 6,67$ delfines/grupo, con rangos entre 1 a 30 individuos, los que sugiere la formación de unidades de asociaciones pequeñas en toda el área (Tabla 3). Además no se encontraron diferencias significativas en el tamaño promedio de los grupos entre las subzonas CN y BC.

Tabla 3: Estadísticas y comparación del tamaño de los grupos de delfines avistados en la costa norte de Matanzas, Cuba.

SUBZONA	N	TAMAÑO MEDIO DE GRUPOS	IC 95%	RANGO	U	P
CN	127	7.05 ± 0.57	5.92 - 8.19	1-30	88,3	0.21
BC	43	7.68 ± 1.09	5.47 - 9.89	1-25		

En todos los años, independientemente del esfuerzo de muestreo y la subzona analizada fueron avistadas crías en los grupos (Fig. 7). La presencia de crías, al igual que la de los individuos adultos y subadultos fue mayor algunos meses del año, comenzando en el mes de marzo y con un pico en el número de delfines en el mes de agosto (Fig. 8). La presencia de crías en otros meses como noviembre y diciembre sugieren que no hay una estacionalidad reproductiva marcada en esta población.

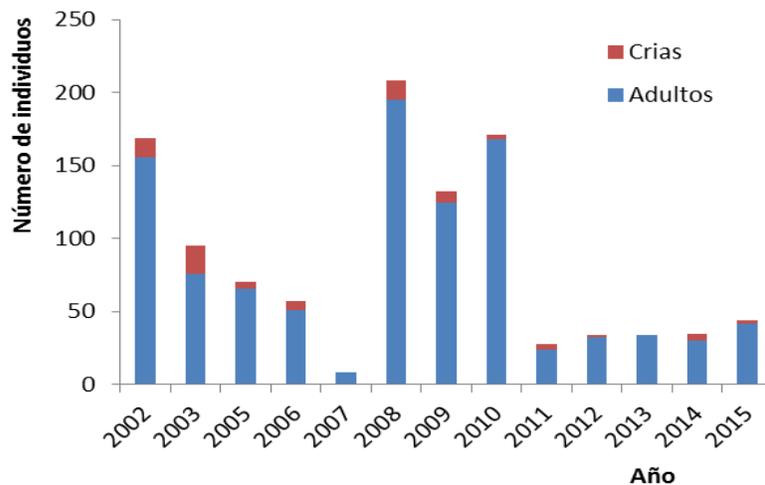


Figura 7. Variación en las proporciones en individuos adultos y juveniles de delfines avistados entre los años de monitoreo en la costa norte de Matanzas, Cuba.

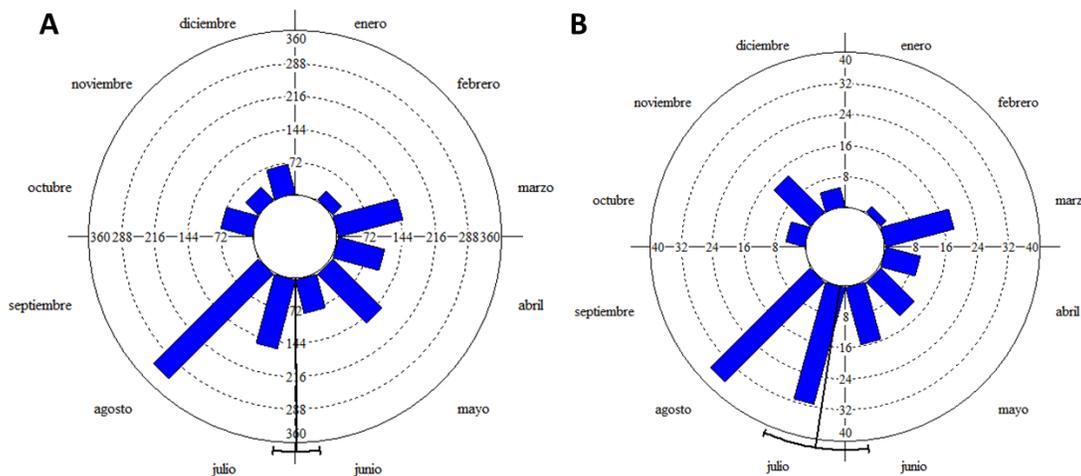


Figura 8. Variación mensual en las proporciones en individuos adultos (A) y juveniles (B) de delfines avistados a lo largo de los años de monitoreo en la costa norte de Matanzas, Cuba.

Las conductas desplegadas por los delfines fueron fundamentalmente las alimentación y el desplazamiento, indistintamente, y en menor medida la socialización. Este mismo patrón de conductas fue observado durante todas las salidas en diferentes meses y años (Fig. 9), lo que sugiere que la especie puede utilizar solamente la zona de Varadero como sitio de alimentación y/o tránsito y en menor medida labores de socialización y apareamiento. Con esta línea de razonamiento se presupone que los individuos se pueden desplazar a otras áreas cercanas a descansar por ejemplo. La observación durante casi todos los meses del año soporta la hipótesis de la no estacionalidad reproductiva de la especie en la zona.

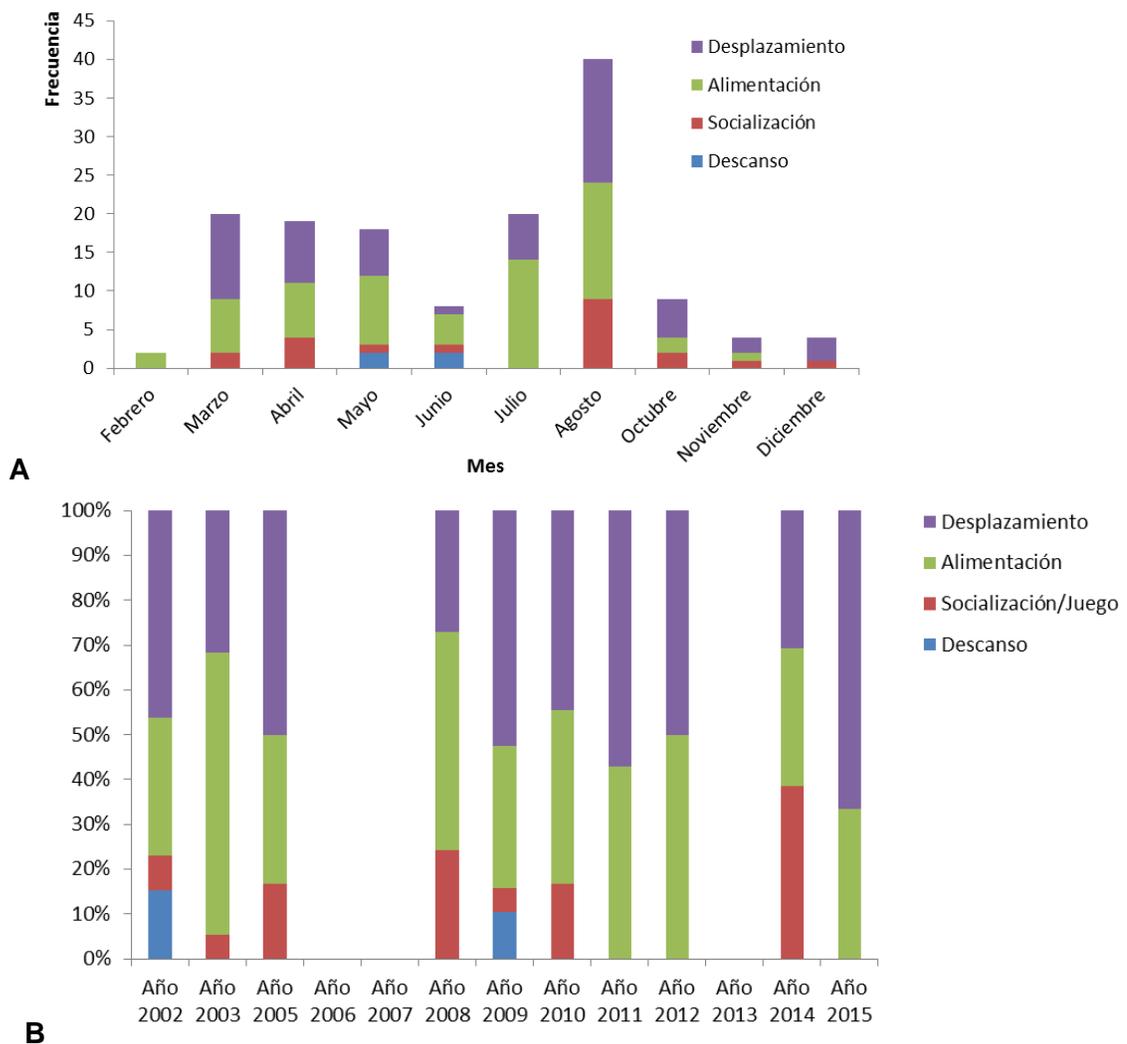


Figura 9. Variación de las frecuencias de expresión de las conductas más importantes en los delfines de la costa norte de Matanzas, entre meses del año (A) y a lo largo de todo el periodo de estudio (B).

El valor de densidad de delfines para el área, estimada según la fórmula de Hammond (1986) y Ortega (1996), fue de 0,09 delfines Km^{-2} . Estos valores no mostraron diferencias entre las dos subzonas muestreadas (Fig. 10). Al compararse con la subzona de cinco leguas (CL), que fue monitoreada hasta el año 2006, tampoco se detectan diferencias, sin embargo, al ser esta un área de muy poca profundidad se hacía casi imposible la navegación y por ello los datos que se obtenían de esta zona introducían una varianza muy elevada y sesgaban los resultados por sobreestimación de la densidad, por lo cual se excluyó de los siguientes monitoreos.

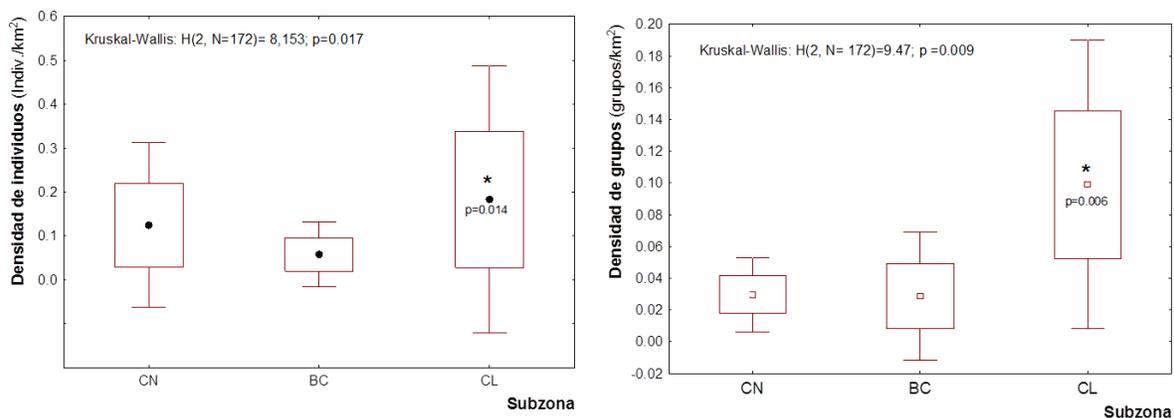


Figura 10. Comparación entre las densidades de delfines individuales (A) y de grupos (B) detectadas en tres zonas de la costa norte de Matanzas (CN: Costa Norte, BC; Bahía de Cárdenas y CL: Cinco Leguas). Se representan la media, el error estándar y los intervalos de confianza, y el resultado de la prueba de Kruskal Wallis y del *post hoc* por rangos.

Resultados de la fotoidentificación

Se logró un total de 483 nuevas fotografías en las últimas salidas de avistamiento (agosto del 2014 y octubre del 2015), de las cuales el 54 % tuvo calidad suficiente para identificar a los delfines a través de las aletas dorsales u otros elementos identificatorios oportunistas (a dos delfines se les corroboró la identificación por marcas en el dorso). Pudieron ser identificados 43 de los 54 delfines observados y, de ellos, el 79% (34) fueron reavistamientos de animales ya reconocidos desde años anteriores en la costa norte de la provincia de Matanzas (Tabla

4). Nueve delfines con marcas naturales en sus aletas con valor identificador fueron incorporados al catálogo de la institución en estas dos últimas expediciones. El catálogo suma ya 167 delfines observados en la zona al menos una vez en los últimos 15 años.

Tabla 4: Resultados de la fotoidentificación de delfines *T. truncatus* realizada durante las expediciones de agosto de los años 2014 y 2015 en Varadero, Matanzas, Cuba.

AÑO	SALIDA (MES)	No. DELFINES OBSERVADOS	SUBZONA	NUEVO IDENTIFICADO	RECAPTURAS	CÓDIGO EN EL CATÁLOGO
2014	Agosto	6	CN	-	1	49
	Agosto	2	BC	-	1	87
	Agosto	3	CN	-		
2015	Octubre	12	CN	159	5	10,11,12,29,129, 154
	Octubre	2	CN	-		
	Octubre	15	CN	160,161, 162,163,164	13	10,12,25,80,82,83,126, 144,145,146,148,149,152
	Octubre	7	CN	165	6	4,12,129,136 144,147
	Octubre	7	CN	166,167	8	80,82,83,126,131,145, 148,149,160,161,162

La figura 11 muestra el comportamiento de la cantidad de avistamientos totales de individuos de delfines fotoidentificados por año. Una vez más, en los años 2008 al 2010 los valores absolutos de las recapturas de animales fotoidentificados son mayores coincidiendo con un incremento en el esfuerzo de muestreo y del número de avistamientos.

Al graficar la frecuencia de aparición de un delfín o lo que es lo mismo, el número de veces que fue reavistado cada animal fotoidentificado (Fig. 12) se puede apreciar que existe cierto grado de filopatría o preferencia a persistir en dicha localidad. La quinta parte de los delfines fotoidentificados (25%, 42 individuos), por su parte, se han observado entre 4 y 7 veces en el periodo analizado. Un grupo de 21 delfines (12 % de los reavistados) han sido detectados ocho o más veces, e incluso un individuo ha sido observado en 18 oportunidades.

El análisis de los patrones de asociaciones (coexistencias) entre los individuos fotoidentificados en la zona de Varadero rindió resultados diferentes según el enfoque empleado (Fig. 13). La distribución de puntajes C entre todos los individuos se presenta con diferencias marcadas de lo que se esperaría al azar ($C_{obs}=34,0$; $C_{sim}=33,4$; $p<0,01$), consistente con una estructura social bien determinada.

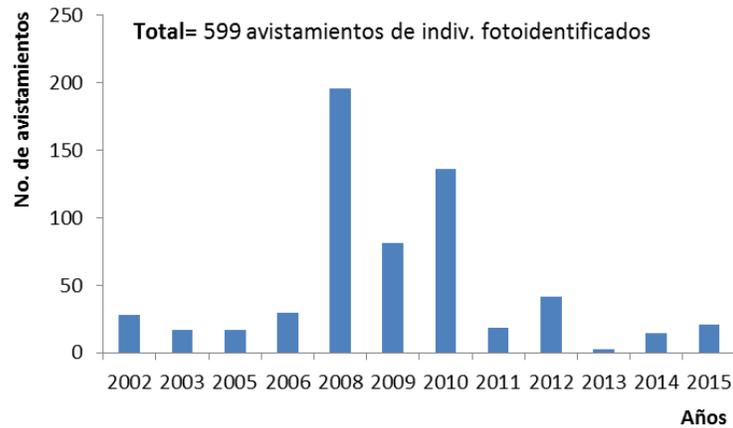


Figura 11. Cantidad de avistamientos de individuos de delfines fotoidentificados por año en la costa norte de Matanzas, Cuba.

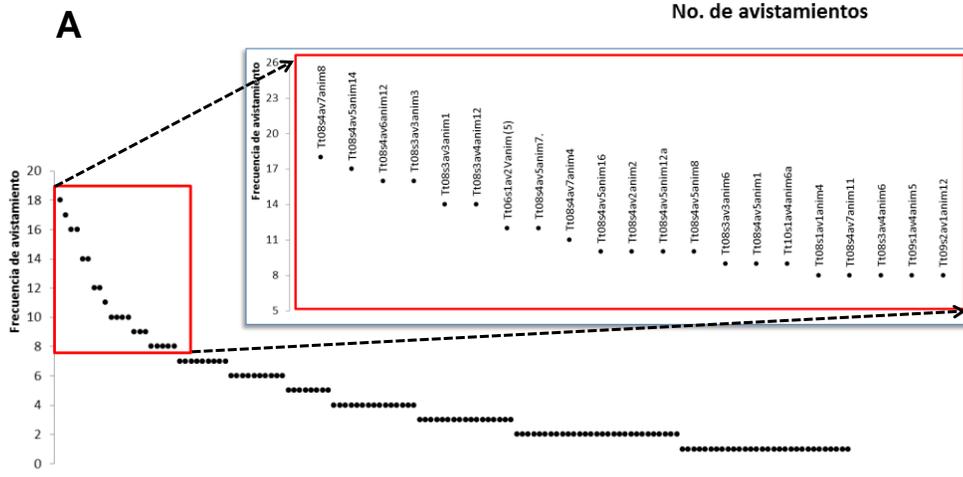
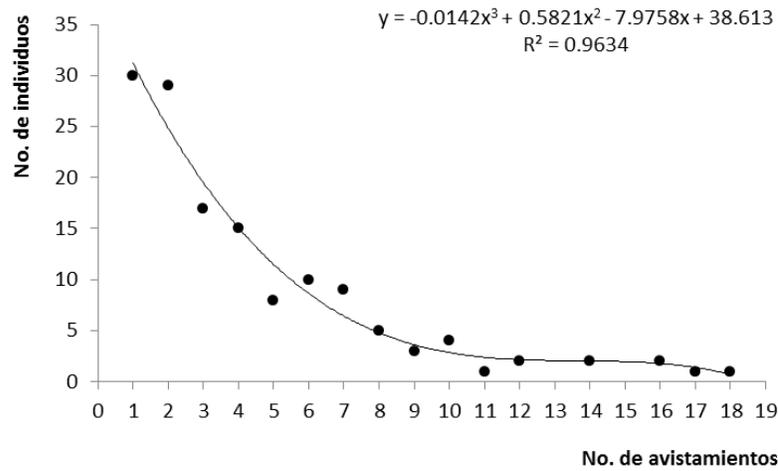


Figura 12. Distribución de la cantidad de reavistamientos de los individuos de delfines foto identificados (A) e identidad de los más frecuentemente reavistados (B) en la costa norte de Matanzas, Cuba.

Sin embargo, al calcular el índice observado solamente para los delfines avistados en más de ocho ocasiones, que serían los de mayor estabilidad en el área, el valor de índice obtenido se encuentra hacia la zona central de la distribución teórica simulada ($C_{obs}=76.2$; $C_{sim}=76,1$; $p>0,01$). Esto significa que, entre estos 21 individuos, las asociaciones aparentes dadas por verse juntos, son prácticamente aleatorias, y esto pudiera ser evidencia de que dichos individuos constituyen individuos núcleos en los grupos más estables, de los que los individuos menos reavistados son los que tienden a entrar y salir de la zona.

Independientemente de esta tendencia general a la no coexistencia, la representación bidimensional del escalado multivariado con las matrices de coexistencia (Fig. 14) muestra que algunos individuos de delfines tienden a tener asociaciones más cercanas entre sí, que otros, y no de manera aleatoria totalmente.

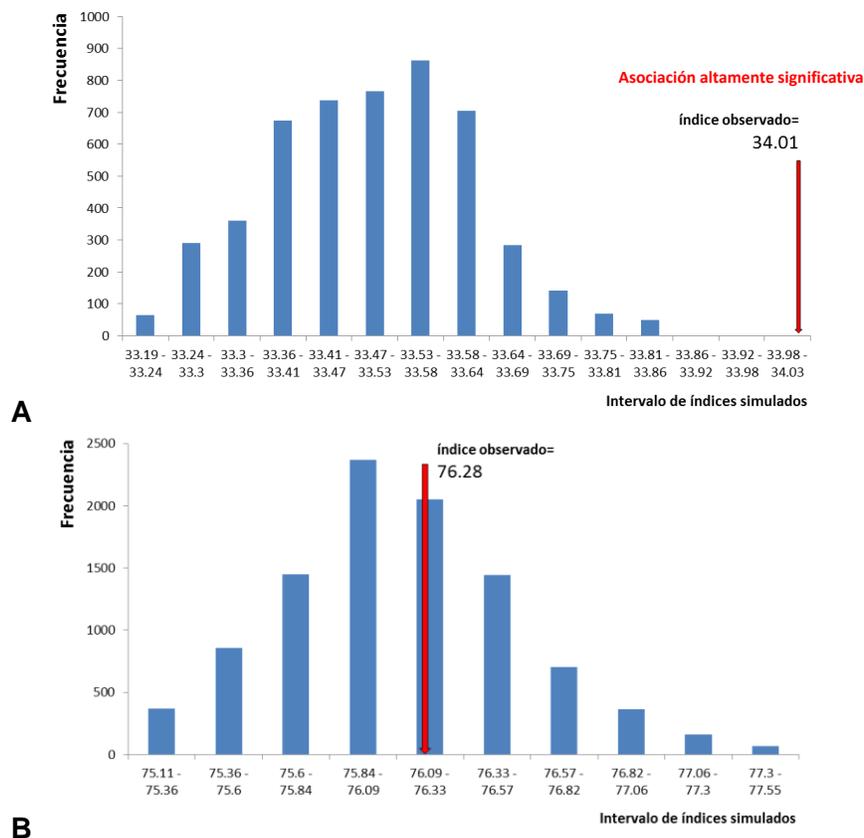


Figura 13. Distribución de puntajes C para describir el patrón de asociación de los individuos de delfines *T. truncatus* fotoidentificados y reavistados en la zona de la costa norte de Matanzas, Cuba. A) Análisis con todos los individuos; B) Análisis con los individuos de mayor frecuencia de reavistamientos.

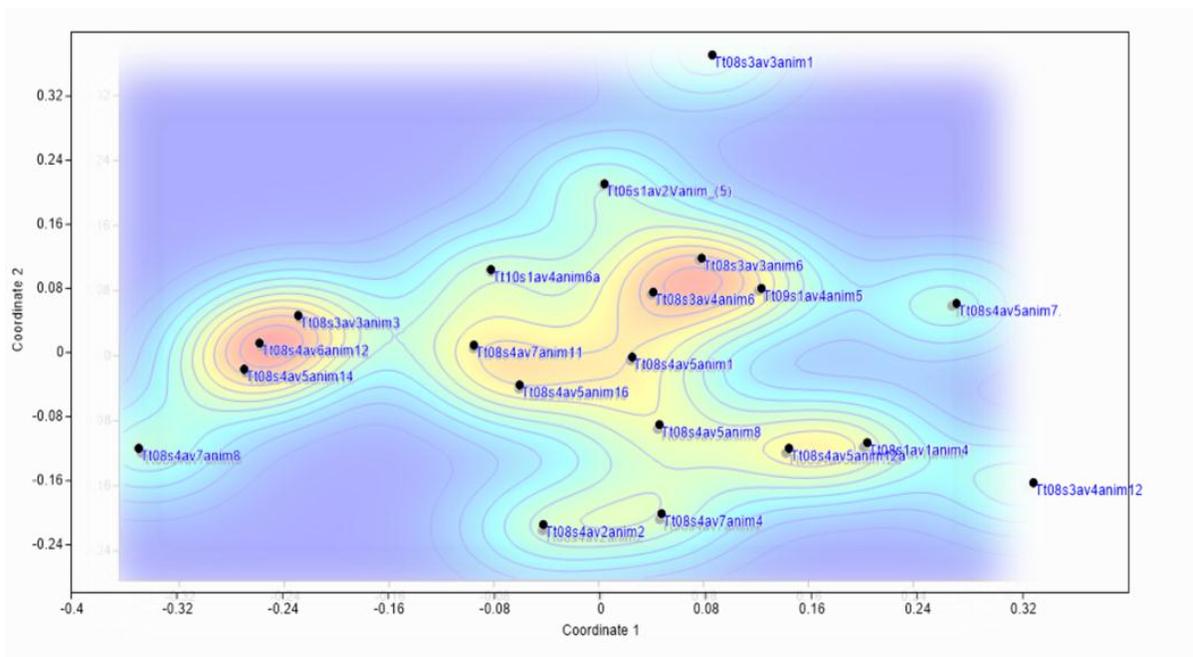


Figura 14. Distribución de las relaciones de coexistencias a partir de los puntajes C, para describir el patrón de asociación de los 21 individuos de delfines fotoidentificados con mayor cantidad de reavistamientos. La cercanía entre individuos en el plano de ordenamiento indica mayor probabilidad de apariciones conjuntas.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN CLÍNICA DE DELFINES EN EL ÁREA DE CAPTURA

Para la evaluación clínica de la población de delfines en el área de captura fueron manipulados un total de 46 nuevos delfines (21 hembras y 25 machos) entre los años 2014 y 2017. Los datos obtenidos se sumaron a base de datos de sangre de la institución que suma un total de 1945 chequeos realizados a 386 delfines (205 hembras y 181 machos) desde el año 2000 hasta la fecha.

Resultados del análisis de parámetros sanguíneos normales

Para el análisis de los valores normales de los parámetros sanguíneos se utilizaron solamente los datos de los delfines que resultaron asintomáticos en los chequeos clínicos. Esto dio una muestra de 736 chequeos a 188 delfines (96 hembras y 92 machos). Ninguno de los datos analizados cumplió con la normalidad ni con la homogeneidad de Varianza. La

primera premisa fue probada por la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0.2$) y la segunda por la prueba de Levene ($F < 1.46$, $p > 0.05$). Las tallas de los delfines de la muestra no mostraron diferencias significativas entre sexos y oscilaron entre los 1,71 metros y 2,49 metros de longitud total (Tabla 5). Los resultados de los descriptivos generales de los 188 delfines asintomáticos se muestran en el Anexo 1.

Tabla 5: Descriptivos generales de las tallas (cm) de los delfines (188 individuos) evaluados clínicamente para describir los parámetros hemáticos normales (n: número total de mediciones).

Variable	Estadístico	Machos	Hembras	Total	Prueba U	p
Talla	Media \pm ES	2,14 \pm 0,01	2,13 \pm 0,01	2,13 \pm 0,01	18500.5	0.68
	IC 95%	2,11 - 2,17	2,108 - 2,149	2,12 - 2,15		
	n	140	271	411		
	Min - Max	1,73 - 2,49	1,71 - 2,49	1,71 - 2,49		

Como fisiológicamente muchos parámetros sanguíneos están biológicamente relacionados, tanto de manera directa como indirecta se analizaron las correlaciones entre todas las variables sanguíneas por medio de correlaciones de Pearson. La figura 15 muestra los resultados que resultaron significativos. En las relaciones entre la hemoglobina y el hematocrito, así como entre los neutrófilos y linfocitos aparecieron coeficientes elevados ($r > 0,7$), aunque en el segundo caso la relación fue inversa. En el resto de las correlaciones el coeficiente fue inferior ($0,23 < r < 0,34$). La talla de los individuos no se correlacionó con ninguno de los parámetros sanguíneos, por lo que la muestra total fue analizada de manera conjunta.

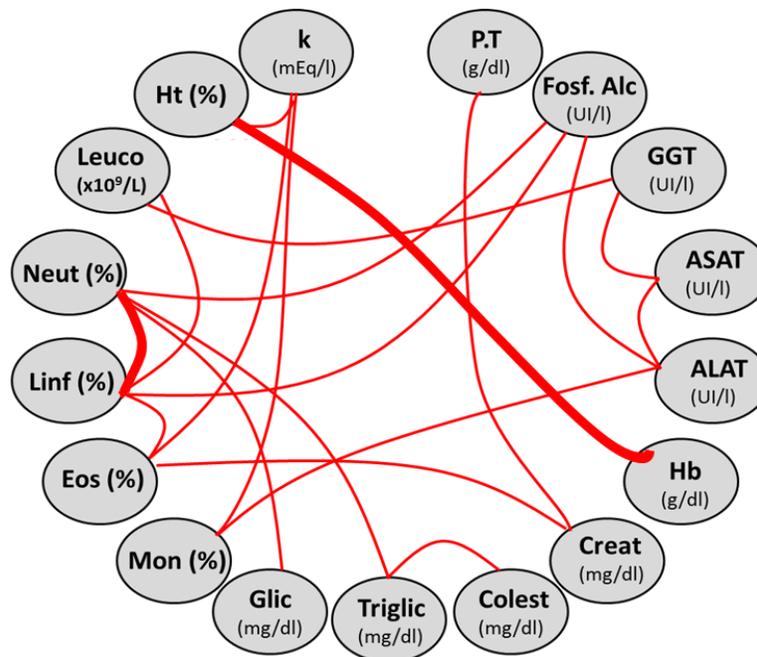


Figura 15: Estructura de correlaciones entre las variables sanguíneas evaluadas en una muestra de 411 análisis a delfines *T. truncatus* de la zona norte central del archipiélago de Sabana Camagüey, Cuba. Las siglas de las variables se definen en los materiales y métodos (página 18). Se representan solo las relaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$), el grosor de la línea indican la magnitud del coeficiente de correlación, líneas gruesas representan coeficiente mayores a 0.7.

Al comparar los parámetros sanguíneos entre los sexos, a través de la prueba U de Mann – Witney, 11 de los parámetros evaluados mostraron diferencias significativas (Fig. 16). En los casos de la Hemoglobina (Hb), el Hematocrito (Ht), el Hierro sérico (Fe), conteo de Eritrocitos (RBC) y de Leucocitos (Leu), los neutrófilos en el diferencial (Neu), la Bilirrubina (Bil) y la Creatinquinasa (CK) mostraron valores estadísticamente superiores para los machos en comparación con las hembras. Por su parte las transaminasas TGO (ASAT) y TGP (ALAT) presentaron valores superiores en el caso de las hembras ($p < 0,05$). Los resultados de las comparaciones de los parámetros sanguíneos que no mostraron diferencias sexuales se muestran en la figura 17.

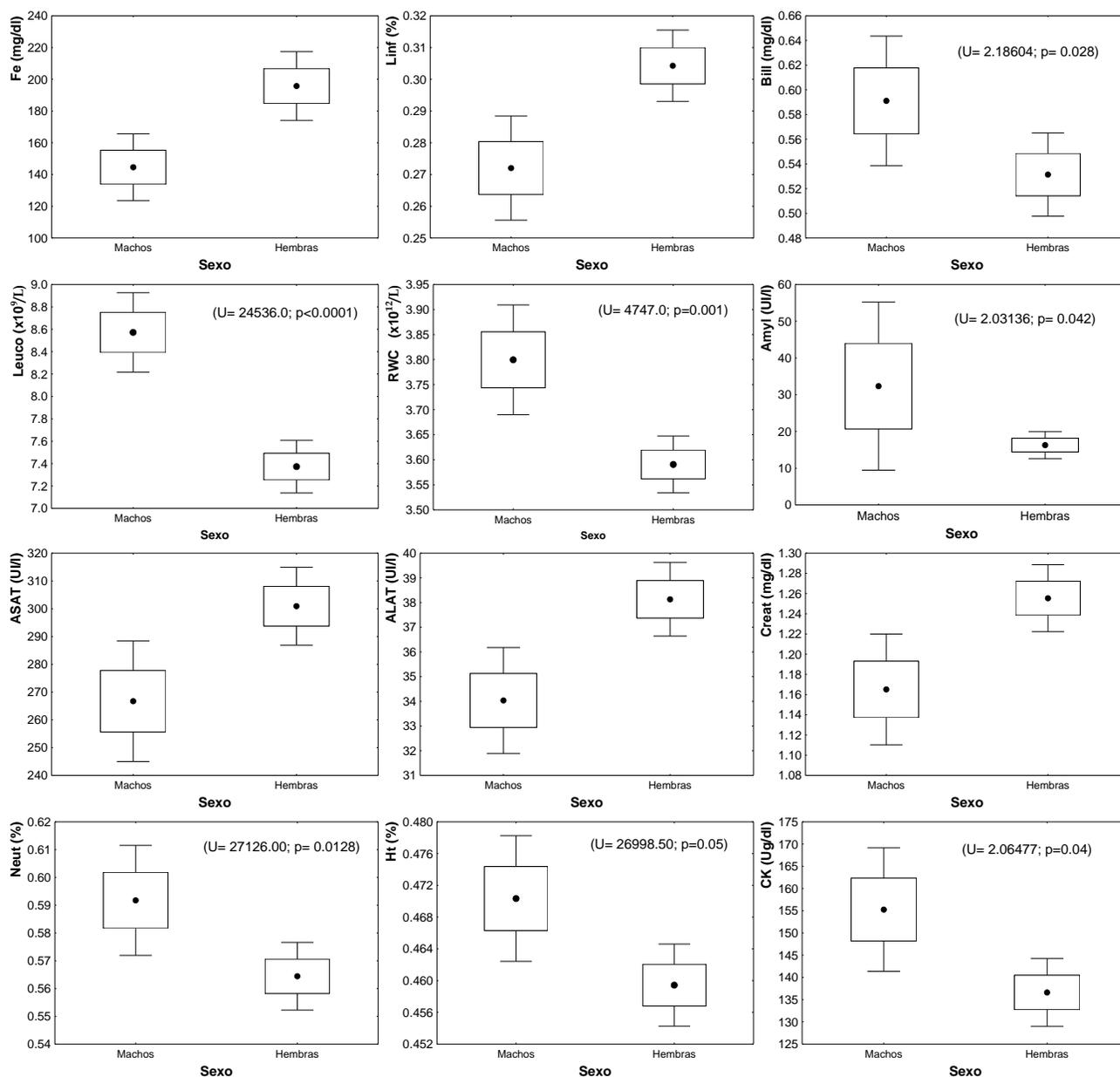


Figura 16: Parámetros hematológicos con diferencias sexuales significativas en los delfines *Tursiops truncatus*.

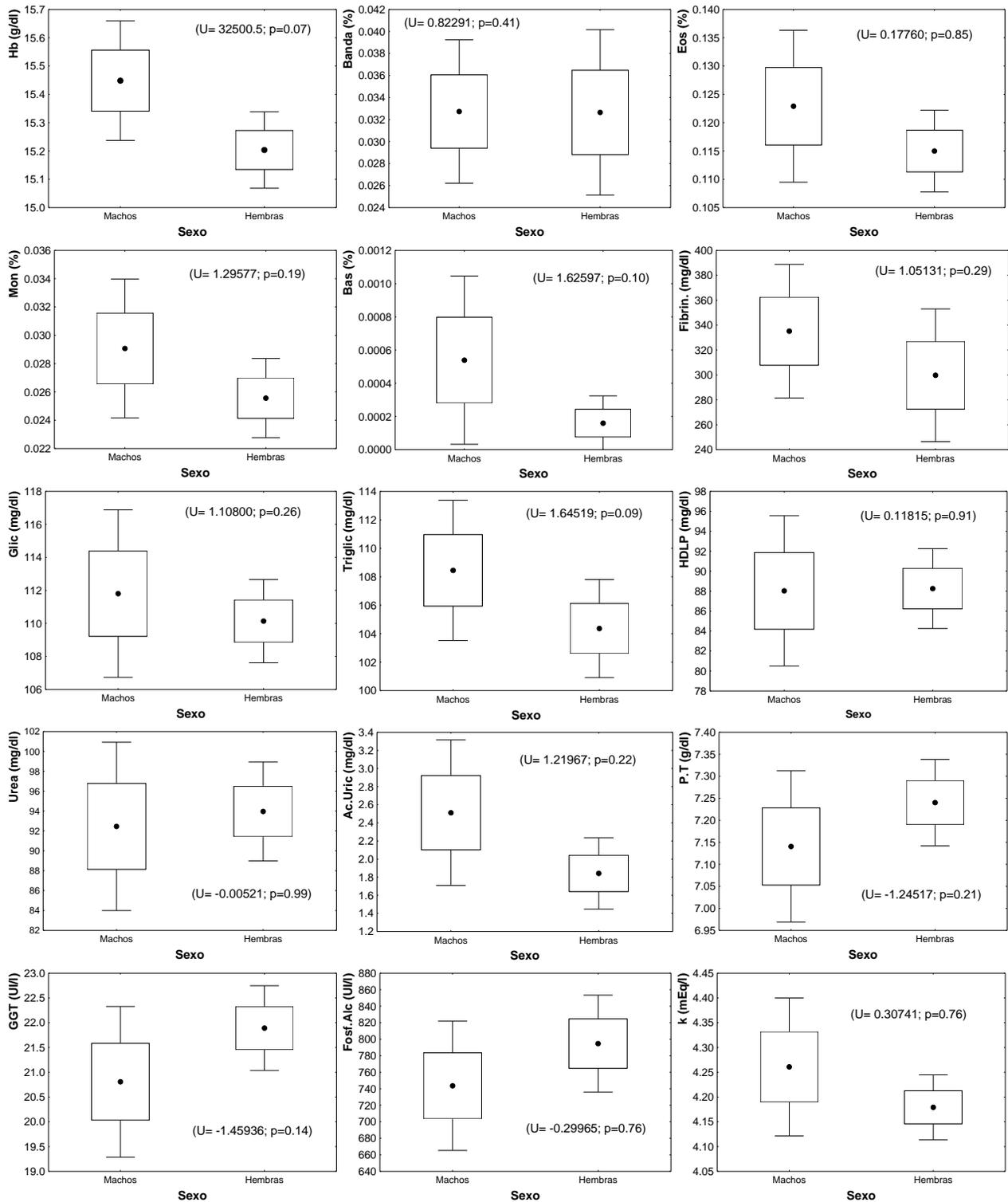


Figura 17: Parámetros hematológicos que no mostraron diferencias entre sexos en los delfines *T. truncatus*

Para establecer cuáles son los valores normales en los parámetros sanguíneos de la especie *T. truncatus* para aguas cubanas, y evitar la influencia de valores extremos o no normales, se procedió a evaluar las relaciones entre los individuos asintomáticos por medio de un escalado multidimensional no métrico con todos los parámetros sanguíneos. La premisa para esta prueba es tomar solamente aquellos delfines a los que se les hayan realizado todas las variables sanguíneas. Este escalado mostró que solo el 83 % de los chequeos, correspondiente a 77 delfines asintomáticos se encuentran agrupados lo suficientemente cercanos entre sí, en la zona del ordenamiento identificada con la letra A, como para considerar sus valores representativos de la población (Fig.18). El 17 % de los animales restantes (12 delfines) fueron ubicados en dos zonas B y C, en dependencia de su cercanía al núcleo central. Al comparar los valores sanguíneos entre los individuos ubicados en las tres zonas del gráfico aparecían diferencias significativas en nueve de los parámetros hematológicos analizados.

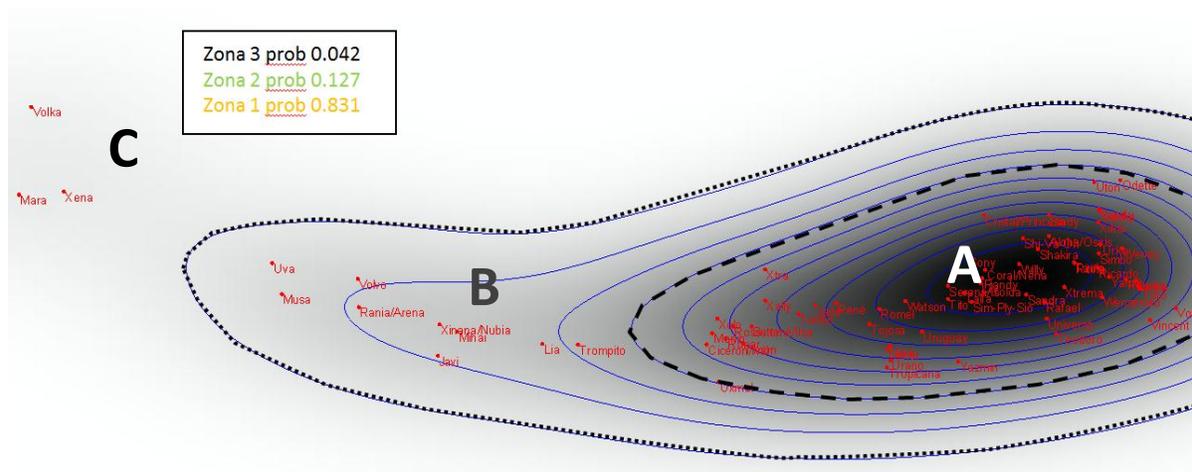


Figura 18: Representación del escalado multidimensional no métrico de los individuos de delfines asintomáticos, ordenados según la semejanza entre sus parámetros sanguíneos. Se representan sombreadas las zonas de probabilidades (a partir de una función Kernel) y se definen tres regiones, con diferentes valores de probabilidad.

Solamente con los resultados de los chequeos de los 77 delfines de la región A se procedió, nuevamente, a calcular los estadísticos descriptivos de los parámetros sanguíneos que se proponen para ser considerados como los “Rangos Normales” para la especie *T. truncatus* en aguas cubanas (Tabla 6).

Tabla 6: Valores de los parámetros sanguíneos propuestos como "Rangos Normales" para la especie *T. truncatus* en aguas cubanas.

Variable*	Estadístico	Machos	Hembras	Todos
Hb (g/dl)	Media ± ES	15,448 ± 0,108	15,204 ± 0,069	15,2778 ± 0,0582
	LC 95%	(15,236 - 15,661)	(15,068 - 15,34)	(15,164 - 15,392)
	Min - Max	(11,3 - 19,9)	(11,3 - 19,7)	(11,3 - 19,9)
	N	177	405	583
Ht (%)	Media ± ES	0,47 ± 0,004	0,459 ± 0,003	0,4628 ± 0,0022
	LC 95%	(0,462 - 0,478)	(0,454 - 0,465)	(0,458 - 0,467)
	Min - Max	(0,31 - 0,6)	(0,33 - 0,61)	(0,31 - 0,61)
	N	163	369	533
RWC (x10 ₁₂ /L)	Media ± ES	3,844 ± 0,063	3,583 ± 0,03	3,6417 ± 0,0263
	LC 95%	(3,719 - 3,97)	(3,524 - 3,642)	(3,59 - 3,694)
	Min - Max	(2,8 - 5,4)	(2 - 4,8)	(2,6 - 4,9)
	N	67	201	266
Leuco (x10 ₉ /L)	Media ± ES	8,655 ± 0,198	7,508 ± 0,178	7,7402 ± 0,1026
	LC 95%	(8,264 - 9,045)	(7,157 - 7,858)	(7,539 - 7,942)
	Min - Max	(3,9 - 23,2)	(2,9 - 60)	(2,9 - 17,1)
	N	177	399	575
Neut (%)	Media ± ES	0,589 ± 0,011	0,565 ± 0,006	0,5728 ± 0,0053
	LC 95%	(0,568 - 0,609)	(0,553 - 0,577)	(0,562 - 0,583)
	Min - Max	(0,05 - 0,85)	(0,12 - 0,86)	(0,12 - 0,85)
	N	168	375	542
Banda (%)	Media ± ES	0,002 ± 0,001	0,004 ± 0,001	0,0327 ± 0,003
	LC 95%	(0,001 - 0,003)	(0,002 - 0,005)	(0,027 - 0,039)
	Min - Max	(0 - 0,05)	(0 - 0,25)	(0,01 - 0,09)
	N	167	375	45
Linf (%)	Media ± ES	0,276 ± 0,009	0,302 ± 0,006	0,2943 ± 0,0048
	LC 95%	(0,258 - 0,294)	(0,29 - 0,313)	(0,285 - 0,304)
	Min - Max	(0,08 - 0,9)	(0 - 0,74)	(0,05 - 0,74)
	N	168	375	540
Eos (%)	Media ± ES	0,119 ± 0,007	0,114 ± 0,004	0,1174 ± 0,0033
	LC 95%	(0,104 - 0,133)	(0,106 - 0,122)	(0,111 - 0,124)
	Min - Max	(0 - 0,46)	(0 - 0,56)	(0,01 - 0,38)
	N	168	375	510
Mon (%)	Media ± ES	0,013 ± 0,002	0,014 ± 0,001	0,0266 ± 0,0012
	LC 95%	(0,01 - 0,016)	(0,011 - 0,016)	(0,024 - 0,029)
	Min - Max	(0 - 0,1)	(0 - 0,18)	(0,01 - 0,1)
	N	167	375	262
Bas (%)	Media ± ES	0,001 ± 0	0 ± 0	0,0003 ± 0,0001
	LC 95%	(0 - 0,001)	(0 - 0)	(0 - 0,001)
	Min - Max	(0 - 0,03)	(0 - 0,02)	(0 - 0,03)
	N	167	375	543
Fe (mg/dl)	Media ± ES	135,841 ± 11,196	198,069 ± 13,033	179,7563 ± 8,935
	LC 95%	(112,108 - 159,575)	(171,582 - 224,556)	(161,781 - 197,731)
	Min - Max	(66 - 245,1)	(49 - 423,8)	(84 - 308)
	N	17	35	48
Fibrin. (mg/dl)	Media ± ES	367 ± 39,351	345,705 ± 35,074	309,8571 ± 20,8772
	LC 95%	(270,711 - 463,289)	(272,542 - 418,867)	(266,308 - 353,406)
	Min - Max	(272 - 558)	(3,8 - 560)	(161 - 500)
	N	7	21	21

Tabla 6 (Cont.): Valores de los parámetros sanguíneos propuestos como “Rangos Normales” para la especie *T. truncatus* en aguas cubanas.

Variable*	Estadístico	Machos	Hembras	Todos
Glic (mg/dl)	Media ± ES	115,45 ± 2,995	111,108 ± 1,381	110,6313 ± 1,1862
	LC 95%	(109,539 - 121,36)	(108,394 - 113,822)	(108,302 - 112,961)
	Min - Max	(6,32 - 265)	(19,27 - 226)	(6,32 - 192)
	N	177	412	581
Triglic (mg/dl)	Media ± ES	108,497 ± 2,867	104,696 ± 1,9	105,6308 ± 1,4421
	LC 95%	(102,827 - 114,167)	(100,956 - 108,436)	(102,796 - 108,466)
	Min - Max	(36,36 - 245)	(57 - 281,7)	(70 - 194)
	N	134	292	413
Coolest (mg/dl)	Media ± ES	186,262 ± 3,858	186,232 ± 2,596	184,502 ± 1,919
	LC 95%	(178,638 - 193,885)	(181,127 - 191,337)	(180,732 - 188,272)
	Min - Max	(95,2 - 475)	(72,86 - 422)	(91,26 - 332)
	N	149	367	510
Amyl (UI/l)	Media ± ES	32,333 ± 11,667	23,894 ± 8,112	19,1176 ± 2,7731
	LC 95%	(-17,864 - 82,531)	(6,603 - 41,185)	(13,239 - 24,996)
	Min - Max	(14 - 54)	(11,3 - 143)	(14 - 54)
	N	3	16	17
HDLP (mg/dl)	Media ± ES	88,029 ± 3,841	79,879 ± 4,475	88,2065 ± 1,7704
	LC 95%	(78,631 - 97,426)	(70,696 - 89,061)	(84,591 - 91,822)
	Min - Max	(73,3 - 100)	(14 - 100)	(61,5 - 100)
	N	7	28	31
Creat (mg/dl)	Media ± ES	1,18 ± 0,032	1,296 ± 0,039	1,2272 ± 0,0146
	LC 95%	(1,117 - 1,244)	(1,219 - 1,373)	(1,198 - 1,256)
	Min - Max	(0,1 - 3,52)	(0,4 - 14,57)	(0,4 - 2,3)
	N	175	380	550
Urea (mg/dl)	Media ± ES	93,758 ± 4,473	96,287 ± 2,851	93,4853 ± 2,2021
	LC 95%	(84,898 - 102,617)	(90,673 - 101,9)	(89,155 - 97,816)
	Min - Max	(9,24 - 246)	(6,58 - 300)	(9,24 - 200)
	N	118	259	371
Ac.Uric (mg/dl)	Media ± ES	2,818 ± 0,469	1,637 ± 0,197	2,0987 ± 0,2027
	LC 95%	(1,852 - 3,784)	(1,239 - 2,035)	(1,693 - 2,504)
	Min - Max	(0,1 - 8,3)	(0,1 - 5,4)	(0,3 - 6,7)
	N	26	42	60
P.T (g/dl)	Media ± ES	7,143 ± 0,095	7,217 ± 0,052	7,2116 ± 0,0436
	LC 95%	(6,956 - 7,33)	(7,114 - 7,32)	(7,126 - 7,297)
	Min - Max	(3,6 - 11)	(3,3 - 10,1)	(4,7 - 10,2)
	N	135	331	463
GTP (UI/l)	Media ± ES	34,583 ± 1,307	38,513 ± 0,818	36,9405 ± 0,6304
	LC 95%	(32,004 - 37,163)	(36,905 - 40,12)	(35,703 - 38,178)
	Min - Max	(4 - 164)	(4,1 - 133)	(7 - 101)
	N	182	442	619
GTO (UI/l)	Media ± ES	266,705 ± 11,088	303,529 ± 7,651	290,6281 ± 6,0435
	LC 95%	(244,813 - 288,598)	(288,485 - 318,573)	(278,757 - 302,499)
	Min - Max	(30 - 680)	(3,66 - 1200)	(16 - 728)
	N	166	388	552
GGT (UI/l)	Media ± ES	21,106 ± 0,826	23,003 ± 0,854	21,5771 ± 0,3834
	LC 95%	(19,474 - 22,738)	(21,322 - 24,683)	(20,824 - 22,33)
	Min - Max	(5,35 - 65,5)	(5 - 232)	(5 - 56)
	N	150	367	514

Tabla 6 (Cont.): Valores de los parámetros sanguíneos propuestos como “Rangos Normales” para la especie *T. truncatus* en aguas cubanas.

Variable*	Estadístico	Machos	Hembras	Todos
Bill (mg/dl)	Media ± ES	0,608 ± 0,031	0,554 ± 0,023	0,5473 ± 0,0146
	LC 95%	(0,545 - 0,671)	(0,509 - 0,600)	(0,519 - 0,576)
	Min - Max	(0,1 - 1,67)	(0,05 - 2,2)	(0,1 - 1,3)
	N	63	176	233
Fosf.Alc (U/l)	Media ± ES	776,14 ± 51,333	801,917 ± 31,994	779,4884 ± 24,1613
	LC 95%	(674,78 - 877,5)	(739,015 - 864,82)	(732,029 - 826,948)
	Min - Max	(98,8 - 6112)	(21,3 - 4695)	(98,8 - 3562)
	N	165	391	551
CK (Ug/dl)	Media ± ES	172,381 ± 10,226	149,145 ± 6,563	142,5373 ± 3,5073
	LC 95%	(152,122 - 192,64)	(136,216 - 162,074)	(135,639 - 149,436)
	Min - Max	(24,7 - 681)	(22,98 - 975)	(22,98 - 436)
	N	114	239	343
k (mEq/l)	Media ± ES	4,244 ± 0,073	4,199 ± 0,045	4,2041 ± 0,0317
	LC 95%	(4,1 - 4,387)	(4,111 - 4,288)	(4,142 - 4,267)
	Min - Max	(2 - 7,13)	(2 - 10,3)	(2,3 - 7,13)
	N	132	303	430
Progest (ng/ml)	Media ± ES		9,123 ± 2,127	7,6527 ± 1,5542
	LC 95%		(4,897 - 13,35)	(4,564 - 10,741)
	Min - Max		(0,06 - 140)	(0,06 - 60)
	N		90	89

* **Siglas:** Hb: Hemoglobina; Ht: Hematocrito; Eri: Eritrocitos; Leu: Conteo total de leucocitos; Neut: Neutrófilos; Linf: Linfocitos; Eos: Eosinófilos; Mono: Monocitos; Glu: Glucosa; Crea: Creatinina; AU: Ácido úrico; PT: Proteínas totales; Col: Colesterol; Fosf. Alc: Fosfatasa alcalina; TG: Triglicéridos; K: Potasio; CK: Creatin-quinasa; Bill: Bilirrubina; Fe: Hierro sérico; Amil: Amilasa pancreática; GTP: Alanina-aminotransferasa; TGO: Aspartato-aminotransferasa; GGT: Glutamyl-transferasa

Evaluación hematológica asociada a afecciones

Un total de 1215 chequeos clínicos correspondientes a 332 delfines (161 machos y 171 hembras) fueron analizados para la evaluación hematológica de las afecciones. Las enfermedades más frecuentes detectadas en las poblaciones de delfines de la costa norte central de Cuba son las del sistema respiratorio (32% de los casos) y digestivo (17%). De manera general, fue posible observar un total de 207 signos de alguna enfermedad, siendo la gingivitis el signo más abundante dentro de las enfermedades digestivas durante toda la etapa de muestreo, con una frecuencia relativa igual a 45,5%. Del resto de los signos observados, las lesiones en piel fueron las menos frecuentes (8,21%).

Para la comparación de los valores hematológicos presentes en animales enfermos con los valores normales reportados se utilizaron solamente aquellos análisis en los que los delfines mostraban solamente uno de los grupos de enfermedades descritos (Fig. 19). De esta manera se minimiza el sesgo de las afecciones múltiples.

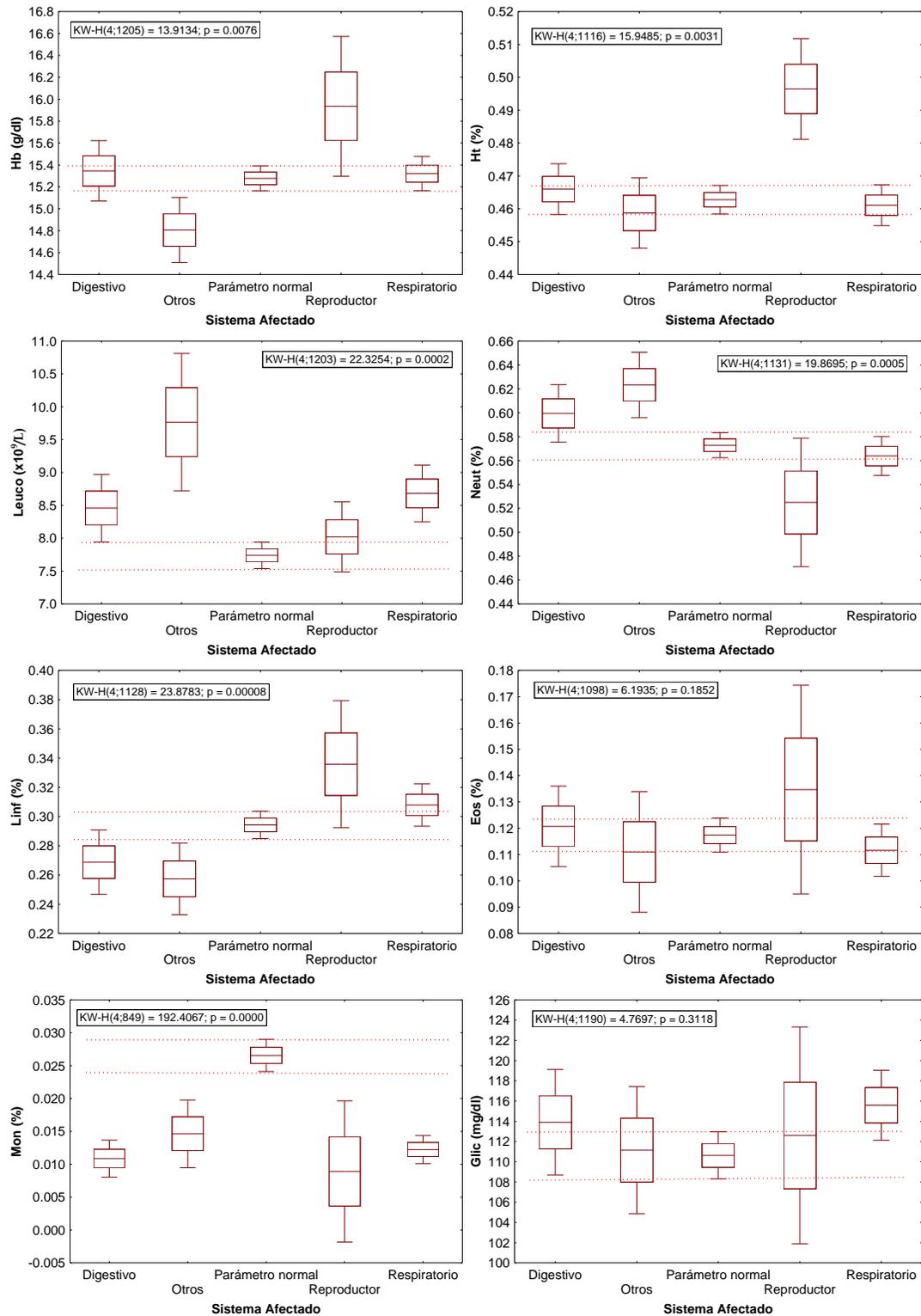


Figura 19: Comparación entre las alteraciones de los valores hematológicos por afecciones a los principales sistemas en los delfines y sus valores normales.

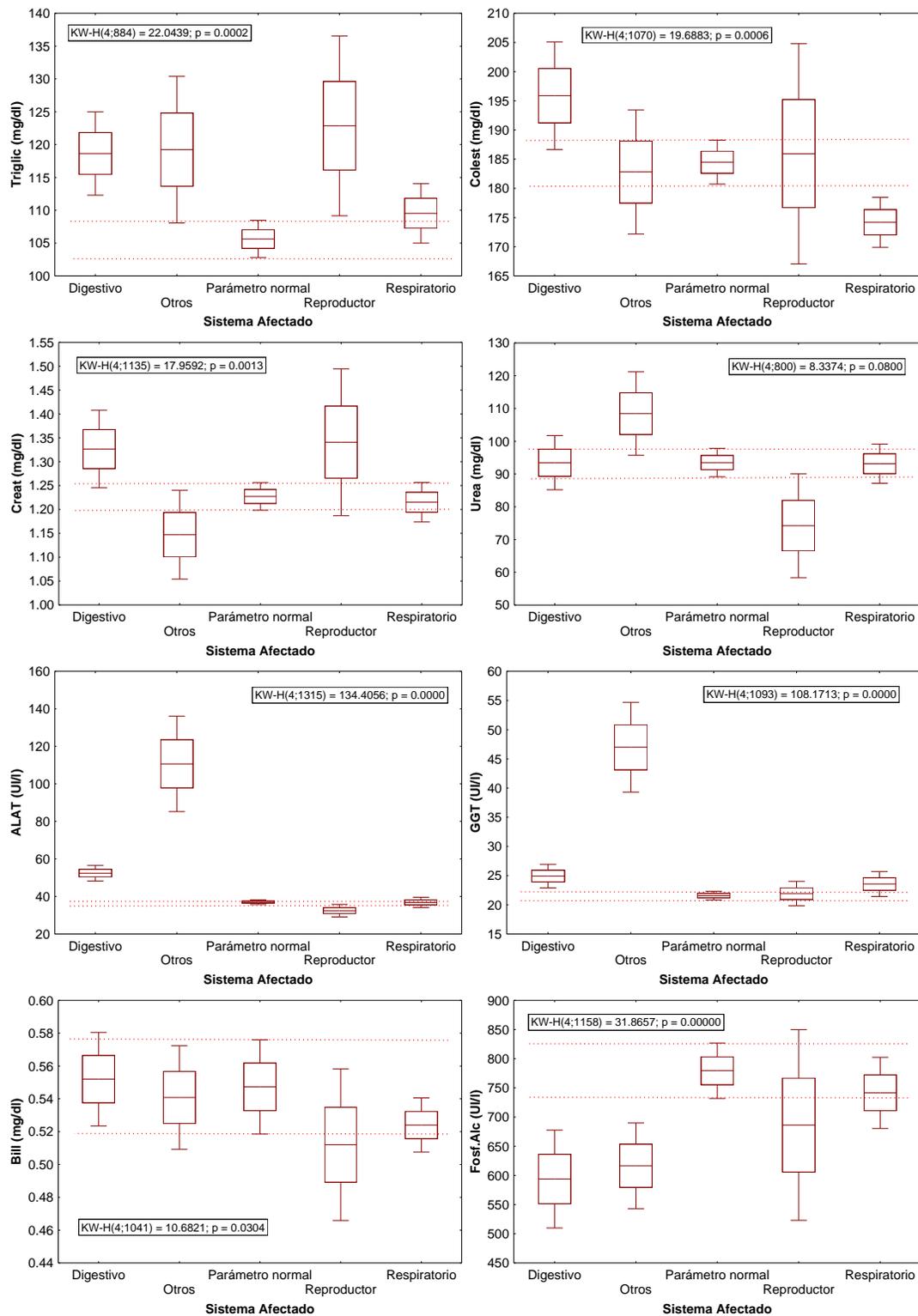


Figura 19 (Cont...): Comparación entre las alteraciones de los valores hematológicos por afecciones a los principales sistemas en los delfines y sus valores normales.

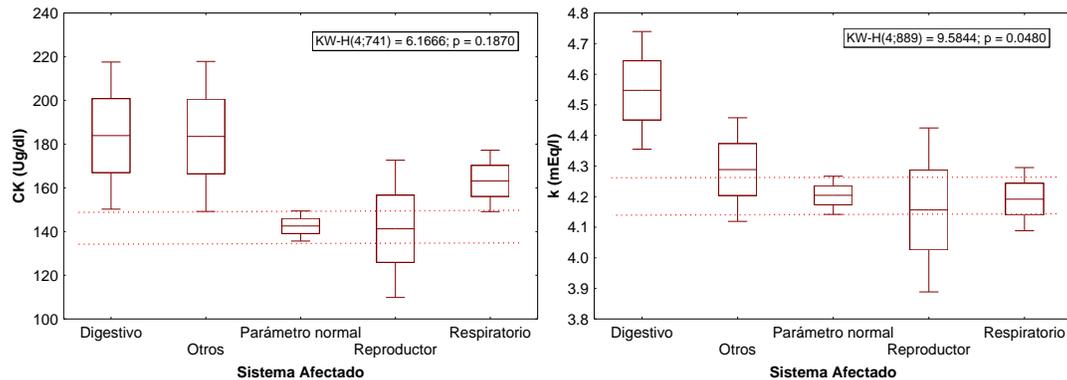


Figura 19 (Cont...): Comparación entre las alteraciones de los valores hematológicos por afecciones a los principales sistemas en los delfines y sus valores normales.

Como se puede apreciar algunos parámetros hematológicos en individuos sintomáticos alteran sus rangos de valores con respecto al rango de los delfines sanos. Así por ejemplo en los individuos con enfermedades digestivas los valores de las transaminasas se elevan al igual que la creatinina y el colesterol y aparentemente la urea. En las enfermedades respiratorias el parámetro más afectado es el conteo de glóbulos blancos en el hemograma. Otros parámetros son menos específicos como el conteo de monocitos, la creatinquinasa (CK) y los triglicéridos, que se alteran con cualquiera de las afecciones o como el caso de la bilirrubina, que mueve muy poco sus valores independientemente de la afección.

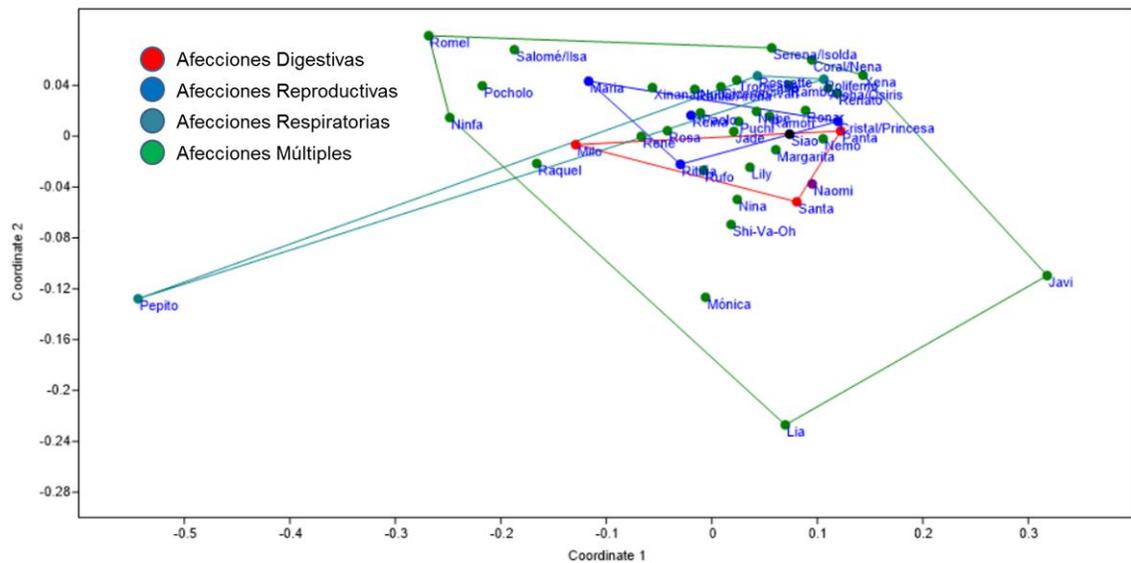
Al analizar las asociaciones entre los parámetros para delfines sintomáticos el comportamiento es bastante similar al calculado para los animales sanos aunque con valores de r^2 ligeramente inferiores (Tabla 7).

Tabla 7: Matriz de correlaciones entre los indicadores hematológicos frente a afecciones de los principales sistemas en los delfines *Tursiops truncatus* en Cuba. Los valores en rojo indican las correlaciones que alcanzaron significación estadística para $p < 0,05$.

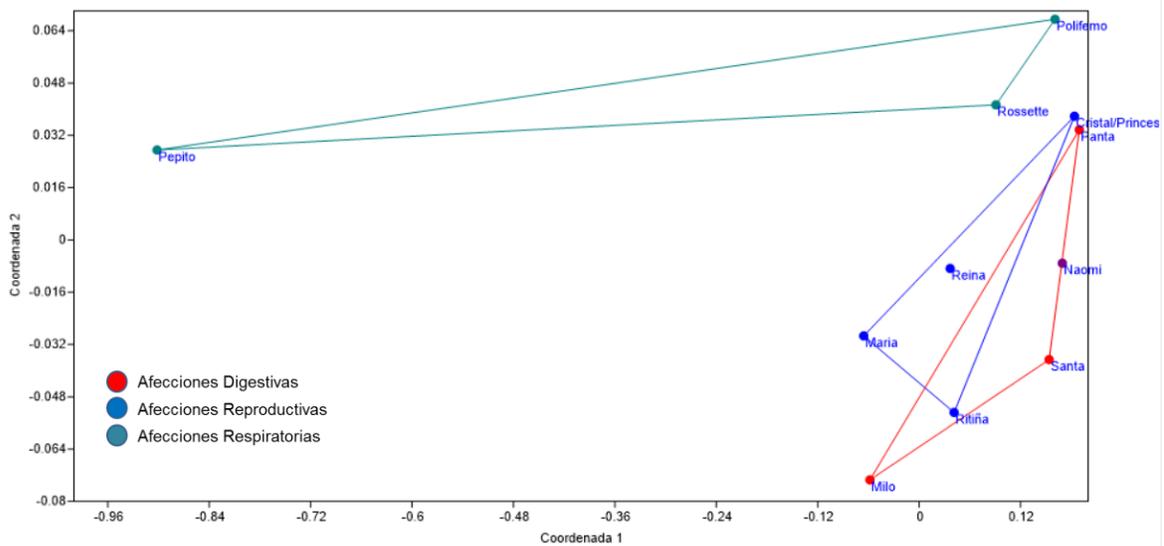
Variable hematológica	Ht (%)	Leuco ($\times 10^9/L$)	Neut (%)	Linf (%)	Eos (%)	Mon (%)	Glic (mg/dl)	Triglic (mg/dl)	Colest (mg/dl)	Creat (mg/dl)	Urea (mg/dl)	ALAT (UI/l)	GGT (UI/l)	Bill (mg/dl)	Fosf.Alc (UI/l)	CK (Ug/dl)	k (mEq/l)
Hb (g/dl)	0.721	-0.138	-0.061	-0.028	0.094	0.113	-0.094	-0.030	-0.102	0.145	-0.073	-0.078	-0.035	-0.190	-0.021	0.060	-0.097
Ht (%)		-0.225	-0.071	0.073	0.005	0.106	-0.094	-0.007	-0.006	0.148	0.076	0.045	0.020	-0.079	-0.016	-0.006	-0.139
Leuco ($\times 10^9/L$)			0.204	-0.09	-0.10	-0.07	0.092	-0.080	-0.195	0.027	0.233	-0.012	0.036	-0.089	-0.257	0.129	-0.162
Neut (%)				-0.682	-0.300	-0.169	0.042	0.149	-0.010	0.008	0.072	-0.037	0.043	-0.113	-0.138	0.017	-0.374
Linf (%)					-0.457	0.279	-0.007	-0.020	0.025	-0.064	-0.074	-0.046	-0.157	-0.014	0.178	-0.070	0.309
Eos (%)						-0.323	-0.056	-0.117	-0.031	0.127	0.049	0.105	0.166	0.152	-0.135	0.059	-0.018
Mon (%)							0.082	-0.043	0.145	-0.218	-0.070	0.050	-0.047	0.011	0.142	-0.031	0.319
Glic (mg/dl)								0.206	0.153	-0.066	0.159	-0.073	0.046	-0.078	0.005	0.000	0.009
Triglic (mg/dl)									0.162	0.019	-0.127	-0.036	-0.073	-0.011	0.005	0.062	0.008
Colest (mg/dl)										-0.074	0.009	0.101	0.132	0.104	0.060	-0.021	0.122
Creat (mg/dl)											0.181	-0.029	-0.035	-0.171	-0.179	-0.074	-0.240
Urea (mg/dl)												0.160	0.209	0.001	-0.267	-0.117	-0.180
ALAT (UI/l)													0.809	0.661	-0.070	0.097	0.061
GGT (UI/l)														0.479	-0.097	0.118	0.015
Bill (mg/dl)															0.047	0.137	0.369
Fosf.Alc (UI/l)																0.113	0.336
CK (Ug/dl)																	0.072

Siglas: Hb: Hemoglobina; Ht: Hematocrito; Eri: Eritrocitos; Leu: Conteo total de leucocitos; Neut: Neutrófilos; Linf: Linfocitos; Eos: Eosinófilos; Mono: Monocitos; Glu: Glucosa; Crea: Creatinina; AU: Ácido úrico; PT: Proteínas totales; Col: Colesterol; fal: Fosfatasa alcalina; TG: Triglicéridos; K: Potasio; CK: Creatin-quinasa; Bill: Bilirrubina; Fe: Hierro sérico; Amil: Amilasa pancreática; GTP: Alanina-aminotransferasa; TGO: Aspartato-aminotransferasa; GGT: Glutamyl-transferasa

Por su parte el escalado nométrico realizado con el objetivo de patrones de asociación de individuos en dependencia de la afección mostró superposición entre ellos, por lo que resulta difícil la determinación de un rango de valores hematológicos esperados para cada enfermedad (Fig. 20). Esto ratifica, al mismo tiempo que los valores hematológicos son insuficientes por si solos para un diagnóstico eficiente de las enfermedades en los delfines.



A



B

Figura 19: Ordenamiento de una muestra de individuos de delfines enfermos a partir de sus indicadores hematológicos. A) Todos los individuos (n=44), incluyendo los de afecciones múltiples (n= 32); B) Solo los individuos con afecciones en un sistema (n= 12).

Caracterización clínico-microbiológica de espiráculos

Entre los años 2012 - 2016, se tomaron un total de 46 muestras de exudado de espiráculo en 46 delfines *Tursiops truncatus* (18 hembras y 28 machos) provenientes de vida libre, lográndose aislar e identificar 29 agentes etiológicos (Tabla 8).

Tabla 8. Agentes etiológicos aislados e identificados en exudado de espiráculo de delfines *Tursiops truncatus*, entre los años 2012 – 2016.

Agente etiológico	Microorganismos aislados e identificados	Agente etiológico	Microorganismos aislados e identificados
Bacterias	<i>Vibrio damsela</i>	Bacterias	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Edwardsiella tarda</i>		<i>Staphylococcus epidermitis</i>
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Enterococcus sp</i>		<i>Staphylococcus hycus</i>
	<i>Norganella morganii</i>		<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Providencia sttuarti</i>		<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Micrococcus sp</i>		<i>Enterobacter aery</i>
	<i>Alcaligenes fecalis</i>		<i>Streptococcus sp</i>
	<i>klebsiella pneumoniae</i>		<i>Streptococcus no hemolitico</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>		<i>Streptococcus β-hemolítico</i>
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>		
	<i>Pseudomona fluorenses</i>		
	<i>Pseudomona stuarte</i>		
	<i>Proteus vulgaris</i>		
<i>Proteus reqtteri</i>			
		Hongos	<i>Aspergillus niger</i>
			<i>Aspergillus flavus</i>
			<i>Candida tropicalis</i>
			<i>Candida albicans</i>

De estos agentes etiológicos el mayor porcentaje de aislamiento fue de bacterias, con una distribución de frecuencia del 86.20%, no sucediendo así con los agentes fúngicos (13.80%), como se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Distribución de frecuencia de los agentes etiológicos aislados e identificados en exudado de espiráculo de delfines *Tursiops truncatus*, entre los años 2012 – 2016.

Agente etiológico	Total de Agentes Etiológico	Frecuencia Relativa	(%)
Bacterias	25	0,862	86.20
Hongos	4	0,138	13.80
Total	29	1	100

Los géneros bacterianos más recurrentes fueron: el género *Escherichia* (16,8%), *Proteus* (14,0%), *Enterobacter* (13,0%), *Micrococcus* (11,2%) y *Pseudomona* (9,3%) (Tabla 10), mientras que el género micótico mayormente aislamiento fue *Candida* con un 89,4%.

Tabla 10. Distribución de frecuencia de los géneros bacterianos aislados e identificados en exudado de espiráculo de delfines *Tursiops truncatus*, entre los años 2012 – 2016.

Género Bacteriano	Frecuencia absoluta	Frecuencia Relativa	%
<i>Vibrio</i>	8	0.074	7.4
<i>Edwardsiella</i>	2	0.020	2.0
<i>Escherichia</i>	18	0.168	16.8
<i>Enterococcus</i>	6	0.056	5.6
<i>Norganella</i>	1	0.010	1.0
<i>Providencia</i>	1	0.010	1.0
<i>Micrococcus</i>	12	0.112	11.2
<i>Alcaligenes</i>	2	0.020	2.0
<i>klebsiella</i>	8	0.074	7.4
<i>Pseudomona</i>	10	0.093	9.3
<i>Proteus</i>	15	0.140	14.0
<i>Staphylococcus</i>	7	0.065	6.5
<i>Enterobacter</i>	14	0.130	13.0
<i>Streptococcus</i>	3	0.028	2.8
Total	107	1	100

Diagnóstico serológico de brucelosis en delfines

Del total de 140 muestras de delfines (77 hembras y 63 machos) pesquiasadas por las pruebas Rosa de Bengala y Seroaglutinación lenta solo 13 resultaron positivas a anticuerpos contra *Brucella abortus* cepa 99 (Tabla 11). Sin embargo en solo seis de los casos se pudo confirmar mediante el 2 mercaptoetanol o la Reacción de Fijación del Complemento. Solamente las muestras de tres delfines (2%) resultaron positivas para las dos pruebas confirmatorias. Pese a algunos resultados positivos en las pruebas, no se observa un patrón confiable que permita su uso en la identificación de anticuerpos en suero, al menos empleando la cepa de *B. abortus*.

Tabla 11. Resultados de las pruebas realizadas para el diagnóstico serológico de brucelosis en delfines *Tursiops truncatus*, entre los años 2012–2016. Se muestran los resultados de hemoaglutinación positivos (+) y negativos (-) para *Brucella abortus* Cepa 99.

Id.	Nombre	Rosa de Bengala	Prueba Lenta	2 mercapto-etanol	RFC		
					1/5	1/10	AC
34	1407	(+)	(-)	(-)			
41	Viena	(+)	(-)	(-)			
43	Ulises	(-)	+1/25	(-)	(-)	(-)	(-)
					(+)	(+)	(+)
57	Odette	(+)	+1/50	(-)	(+)	(+)	(+)
					(+)	(-)	(+)
63	Tojosa	(-)	+1/50	+1/25	(+)	(+)	(+)
					(+)	(+)	(+)
69	Paris	(-)	+1/25	+1/25	(-)	(-)	(-)
					(-)	(-)	(-)
71	Tanga	(-)	+1/100	+1/25	(+)	(-)	(+)
					(+)	(+)	(+)
73	Paula	(-)	+1/200	+1/25	(+)	(+)	(-)
					(+)	(+)	(-)
103	Rosa	(+)	(-)	(-)			
114	Nubia	(-)	+1/25	(-)	(-)	(-)	(-)
					(-)	(-)	(-)
115	Niágara	(-)	+1/25	(-)	(-)	(+)	(-)
120	Tamy	(+)	(-)	(-)			
141	Chela	(+)			(-)	(-)	(-)

Diagnóstico serológico de hepatitis en delfines

Detección serológica del VHE y marcadores genéticos (VHE ELISA y VHEARN)

Los anticuerpos anti-VHE fueron detectados en 10 de 31 (32.2 %) sueros de delfines a los que se les realizaron la prueba de ELISA. La prevalencia de anticuerpos contra VHE entre delfines con signos clínicos y elevados niveles de ALT (TGP) por año fue 41.1 % (7 de 17) en 2007 y 21.4 % (3 de 14) en 2014. Delfines de ambos sexos fueron infectados con el virus (Tabla 12). Los valores OD de las muestras positivas variaron de 0,744 a 3.528, mientras que las de muestras negativas variaron desde 0,023 hasta 0,133.

Tabla 12. Características generales y datos clínicos y epidemiológicos relevantes de los delfines *Tursiops truncatus* con positividad para anti-hepatitis E virus (VHE) y marcadores de ARN del VHE. GTP: alanina aminotransferasa (concentración de referencia= 41–60 UI/l). OS: día de inicio de síntomas clínicos; CS: día de colección de la muestra. OD: Densidad óptica: Coeficiente límite (CO) ≥ 1 fueron considerados reactivos. La proporción OD:CO indica: el primer número (1°) anti-VHE en suero antes de aparecer síntomas clínicos; el segundo número (2°) anti-VHE en suero después de aparecer síntomas clínicos y con incremento de ALT.

ID	Sexo	GTP (UI/l)	OS/CS (d/d.m.a)	OD:CO		VHE RNA nRT-PCR en suero	Recinto ID
				1°	2°		
Cristal	Hembra	102	04/12-Nov-2007	NA	5.1	Negativo	B
Javi	Hembra	83	04/12-Nov-2007	0.7	8.0	Negativo	B
Lia	Hembra	96	05/12-Nov-2007	0.2	3.0	Positivo	C
Marina	Hembra	144	10/13-Jun-2014	NA	3.1	Positivo	A
Nina	Hembra	323	12/14-Jun-2014	NA	3.3	Positivo	C
Rambo	Macho	123	04/12-Nov-2007	0.2	3.2	Negativo	C
Raquel	Hembra	153	10/14-Jun-2014	NA	14.1	Negativo	A
Romel	Macho	237	02/12-Nov-2007	0.1	13.3	Positivo	A
Romina	Hembra	980	02/04-Nov-2007	0.2	14.0	Positivo	A
Rufo	Macho	557	01/04-Dic-2007	NA	14.5	Negativo	D

La identificación del tanque de agua (ID) indica animales positivos para marcadores anti-VHE y ARN VHE que compartieron la piscina en ese momento. nRT-PCR: RT-PCR anidado; NA: sin datos.

El ARN del VHE fue detectado en 5 de 31 (16.1%) muestras de suero de delfines. Cinco de diez sueros de delfines con anticuerpos ELISA (50%) fueron positivos en nRT-PCR. El amplicón RdRp (ORF1) también se detectó en la suspensión hepática del animal muerto, Romina (Rm). Los delfines positivos tanto para los anticuerpos anti-VHE como para el ARN de VHE presentaron valores elevados de ALT sérica que variaron entre 96 y 237 U/l. Se identificaron evidencias de seroconversión anti-VHE en 5 animales (Tabla 1). Basado en la química clínica y los signos, delfines con anticuerpos virales para VHE y/o VHEARN fueron detectados entre las 24 y las 96 h después del caso índice de hepatitis aguda. Los delfines positivos para VHE compartían las mismas piscinas entre ellos; sin embargo, no se detectaron casos adicionales 5 días después de la aparición de signos clínicos con aumento de ALT en 2007 o 2014 (Tabla 12).

Secuenciación de nucleótidos y análisis filogenético

Dos de los cinco amplificadores de PCR obtenidos a partir de sueros se concentraron suficientemente para secuenciar. Los amplificadores de PCR obtenidos a partir del hígado homogeneizado también se secuenciaron. Las secuencias de nucleótidos obtenidas de las muestras de suero e hígado del delfín muerto (Romina) fueron 100% idénticas y la secuencia corresponde a la muestra de hígado depositada en la base de datos GenBank (Accession No. KM065571). Esta secuencia parcial se tradujo a una proteína de 99 aminoácidos. La segunda secuencia obtenida del suero del delfín Marina también se depositó en GenBank (KP096349), y su secuencia de aminoácidos deducida fue idéntica en un 99% a la secuencia Romina RdRp.

El análisis básico con la Herramienta de Búsqueda de Alineación Local (BLAST) de estas secuencias de nucleótidos y aminoácidos mostró que eran 100% idénticas a las secuencias homólogas de VHE genotipo 3 (Fig. 20) de humanos en Alemania (ADY18330) y Holanda (A6E 94813). Se han identificado virus similares en Cuba (Montalvo *et al.* 2013).

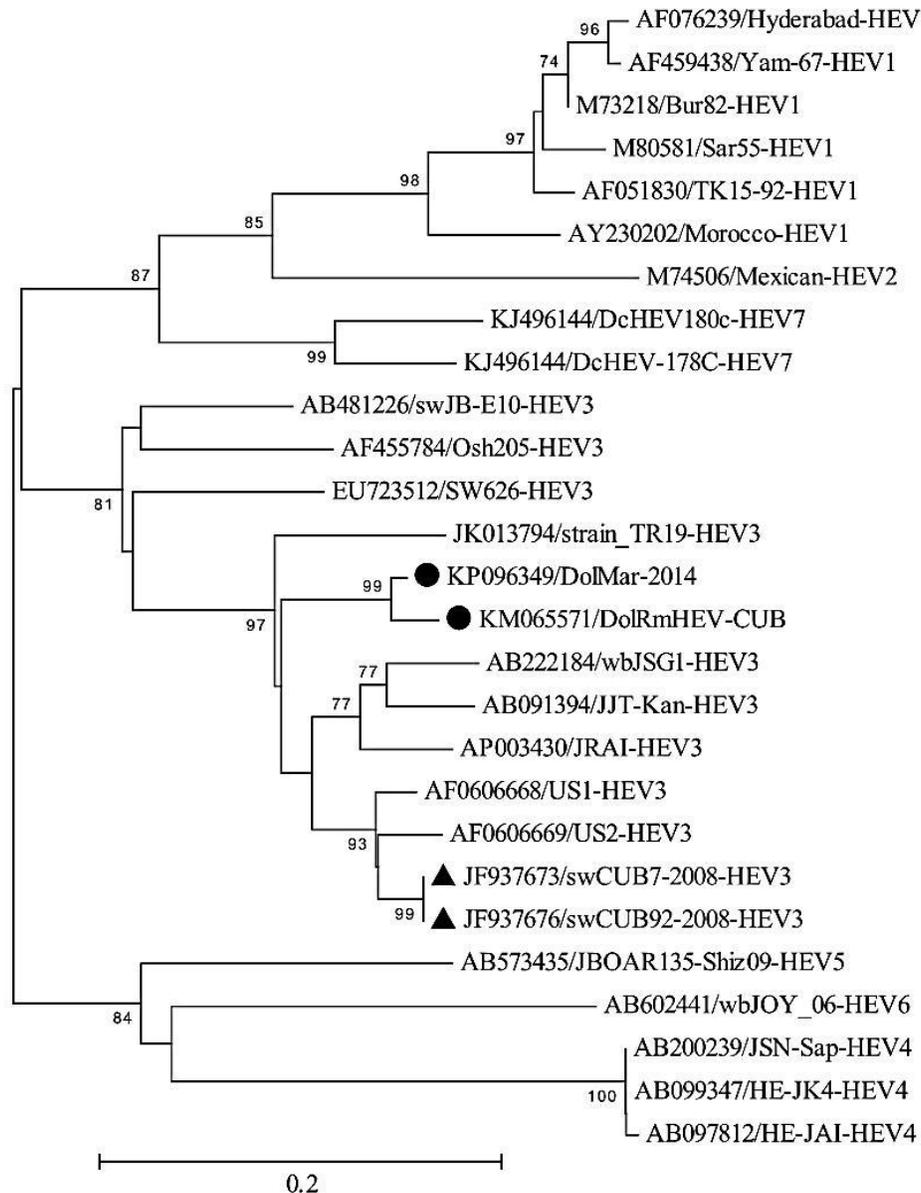


Figura 20.Árbol filogenético del virus de la hepatitis E (VHE) basado en 220 nt de lectura abierta leyendo el cuadro 1 usando el método de unión vecina y parámetros de Kimura- 2.Los valores de Bootstrap superiores al 70% se muestran en las ramas. Secuencias de VHE encontrado en los delfines (D) pertenece al genotipo 3 y es diferente de aislamientos de cerdos VHE (M) identificados anteriormente en Cuba (Montalvo *et al.* 2013). VHE genotipo 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 fueron designados como HVE1, HVE2, HVE3, HVE4, HVE5, HVE6 y HVE7, respectivamente por sus siglas en inglés.

Propagación del virus en el cultivo celular

Dos de cinco muestras de suero positivas para el VHE ARN mediante nRT-PCR tenían cargas virales $\geq 10^4$ copias ml^{-1} mediante qRT-PCR. Los sueros recolectados del delfín Romina contenían 4.51×10^4 copias ml^{-1} , mientras que el delfín Romel tenía 4.41×10^4 copias ml^{-1} . El ARN viral se cuantificó en sobrenadantes de cultivos celulares infectados con el suero del delfín Romina, y los títulos virales aumentaron hasta 2.23×10^6 el día 4 y 7; y luego disminuyeron a 1.30×10^4 copias ml^{-1} en el día 24. En contraste, los títulos virales disminuyeron a 2.43×10^2 copias ml^{-1} en el sobrenadante de cultivo de células infectadas con la muestra Romel a 4 dpi, y no se detectó virus VHE a 7 y 24 dpi. El efecto citopático no se detectó en ningún frasco (muestras Romina y Romel) incluso después de varios pases.

MODELACIÓN DE CRECIMIENTO DE DELFINES

Análisis morfométrico

A la muestra de 20 delfines (3 machos y 17 hembras) seleccionada para el análisis del crecimiento, se le determinó un total de 18 medidas morfométricas (Tabla 13).

Tabla 13: Estadísticos descriptivos de las variables morfométricas de una muestra de delfines *Tursiops truncatus*.

Medidas (cm)	Hembras (n=7) (Media \pm ES)	LC 95 %	CV (%)	Macho (n=1) (Medida)
Largo Total	229,21 \pm 5,56	215,62 - 242,81	6,41	219,0
Ancho Aleta Caudal	58,73 \pm 3,45	50,28 - 67,18	15,56	65,0
Ancho Aleta Dorsal	36,57 \pm 3,56	27,87 - 45,28	25,74	48,0
Altura Aleta Dorsal	23,43 \pm 2,14	18,2 - 28,66	24,13	31,0
Ojo- Aleta Dorsal	80,71 \pm 5,55	67,12 - 94,3	18,20	76,0
Espiráculo - Aleta Dorsal	69,86 \pm 1,79	65,47 - 74,24	6,79	72,0
Aleta Dorsal- Aleta Caudal	84,58 \pm 14,21	49,81 - 119,34	44,45	101,0
Morro-Ojo	37 \pm 2,14	31,77 - 42,23	15,29	42,0
Morro-Aleta Pectoral	51,43 \pm 2,53	45,23 - 57,63	13,04	62,0
Aleta Pectoral-Ombigo	60,86 \pm 8,18	40,84 - 80,87	35,57	76,0
Ombigo-Fin Abertura Genital	30,93 \pm 5,07	18,52 - 43,34	43,38	15,0
Ombigo-Inicio Abertura Genital	34,17 \pm 5,84	19,15 - 49,18	41,87	35,0
Ancho Aleta Caudal	22,14 \pm 1,44	18,62 - 25,66	17,18	28,0
Longitud Mayor Aleta Pectoral	39,43 \pm 3,04	31,99 - 46,86	20,39	48,0
Longitud Menor Aleta Pectoral	30,86 \pm 2,46	24,83 - 36,88	21,12	38,0
Morro	12 \pm 1,43	8,5 - 15,5	31,55	7,0
Circunferencia Abdominal	122,71 \pm 6,48	106,85 - 138,58	13,98	130,0
Largo Lóbulo Aleta Caudal	39,92 \pm 3,25	30,89 - 48,95	18,21	44,8
Circunferencia Craneal	89,67 \pm 0,88	85,87 - 93,46	1,70	

En esta muestra se encontraron cinco hembras a las cuales se les pudo tomar sus dimensiones por más de 12 años y que fueron empleadas en el estudio del crecimiento por el método de mediciones directas.

Las correlaciones entre medidas morfométricas permiten determinar posibles asociaciones alométricas entre ellas, que caracterizan el patrón morfológico de la especie. Se encontraron correlaciones significativas ($r^2 > 0.8$, $p < 0.05$) entre muchas de las variables (Tabla 14), sobre todo en aquellas relacionadas con las aletas (Fig. 21).

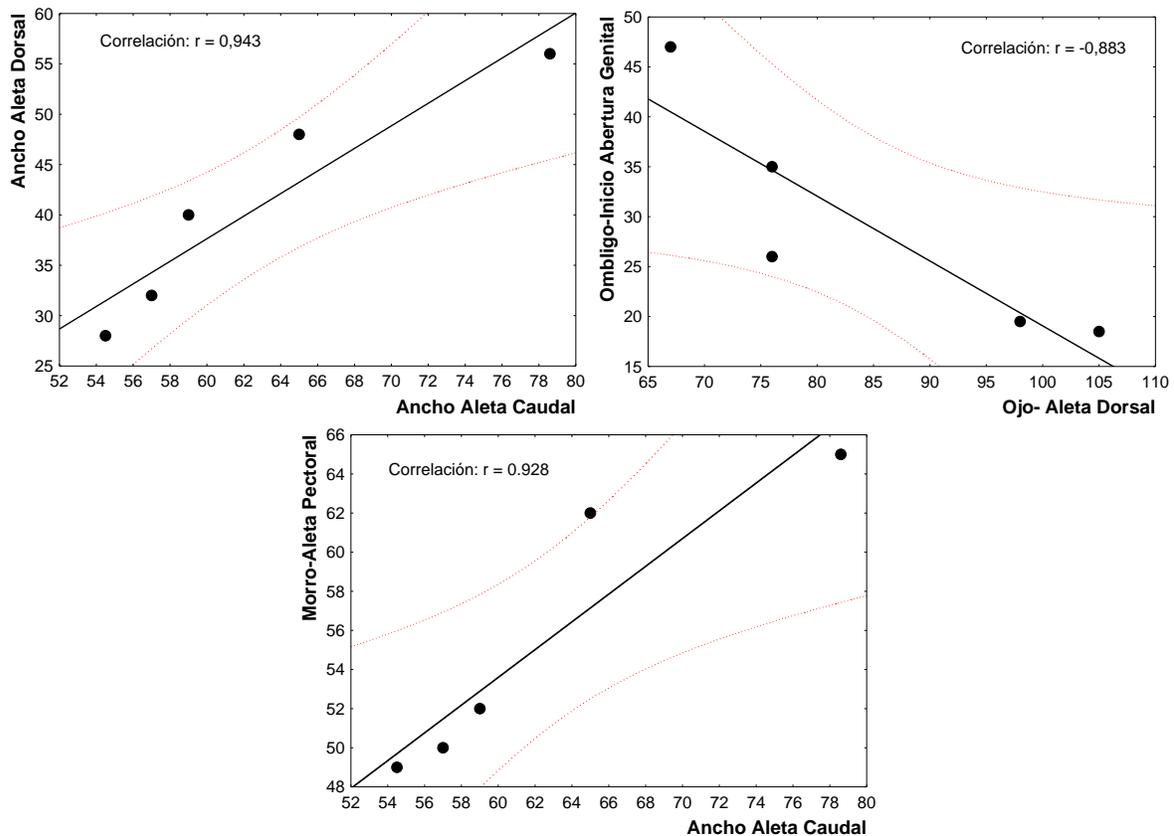


Figura 21: Representación de las relaciones entre algunas de las variables morfométricas que exhiben alometría positiva en *Tursiops truncatus*.

ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO CORPORAL EN LOS DELFINES

Conteo de capas de dentina para el análisis etario

En general, para la muestra, el rango de edades estimadas fue de 2 a 34 años de vida, no obstante la edad media fue de 9 años, con una desviación estándar de 6,87. De los 59 individuos muestreados, el 72% (n = 42) presentó edades menores a los 10 años y el 86% (n = 53) fue menor de 20 años.

Para las hembras las edades encontradas variaron entre 3 y 34 años (Media = 10 ± 1 , 74 DP), mientras que para los machos varió entre 2 y 29 años (Media = $8 \pm 0,89$ DP). Sin embargo, sólo dos animales, un macho y una hembra, presentaron edades mayores a los 30 años. En el caso de los machos, el resto de los animales no fueron mayores de 17 años (Fig. 22). Para las tres primeras clases etarias, el número de individuos machos (C1 = 63%, C2 = 57%, C3 = 88%), fue siempre superior al número de hembras observadas (C1 = 37%, C2 = 43%, C3 = 12%).

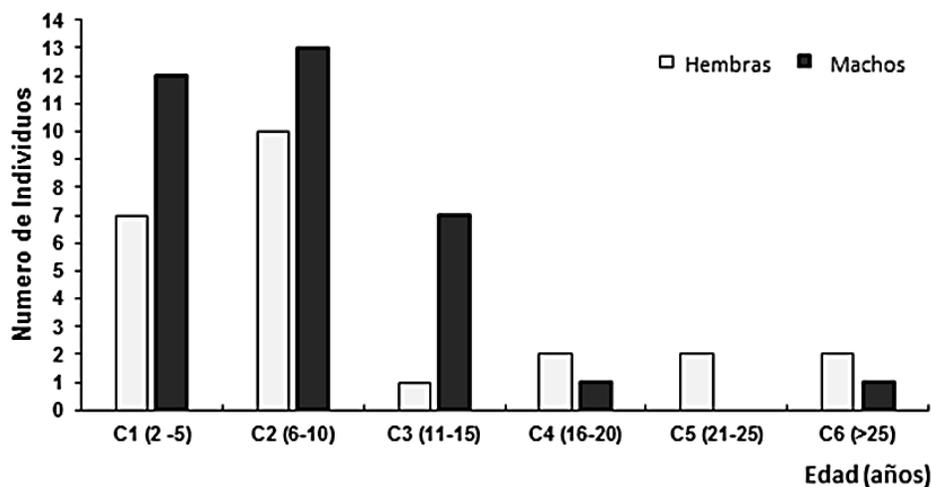


Figura 22: Distribución de las frecuencias de delfines *Tursiops truncatus* por grupo etario en la muestra analizada.

De forma general, el largo total en las hembras varía entre 181 cm y 245 cm, mientras que en los machos la variación fue entre los 172 cm y 251 cm. Para animales mayores de 10

años la longitud observada fue de entre 233 cm y 251cm. La edad del animal con la mayor longitud (LT = 251) fue de 13 años, no siendo el espécimen más viejo de la muestra.

Todos los animales menores de tres años fueron machos y presentaron LT menores de 200 cm. En el grupo de edad de 2 a 3 años, la longitud máxima de las hembras fue mayor al de los machos. En las bandas restantes los machos alcanzaron siempre una longitud máxima superior al de las hembras. Sin embargo, las diferencias en la longitud entre los sexos nunca fueron significativas (Tabla 14).

Tabla 14: Comparación entre sexos en cuanto a las longitudes totales de delfines *Tursiops truncatus* para cada rango de edad, según las capas de los dientes. GLC: Capas de Crecimiento de Dentina. LT: Longitud Total

Clase	Edad (GLC)	Sexo	N	Rango Largo Total	Media LT	SD	t	p
C1	2-3	F	2	200 - 211	205,5	7,77	2,75	0,13
		M	5	172 - 195	184,4	8,64		
C1	4-5	F	5	190-223	207,2	12,75	1,023	0,33
		M	7	200 -228	214,8	12,81		
C2	6-10	F	10	209-235	224,3	8,83	0,30	0,75
		M	13	210-236	225,4	7,62		
C3-C6	11-34	F	9	222 - 245	235,1	7,00	1,98	0,068
		M	9	233-251	241,7	7,02		

Como resultado de las regresiones no lineales, tanto el modelo de Gompertz como el de von Bertalanffy, a partir del LT, explicaron de forma similar el crecimiento en la población estudiada de *T. truncatus*(Fig. 23 y 24). No obstante, en el caso de las hembras, la ecuación de Gompertz generada presentó valores de AICc ligeramente inferiores a los de la ecuación de von Bertalanffy. Un resultado contrario fue hallado para los machos, posiblemente producto al uso de sólo una ecuación en los modelos. Sin embargo, existió entre los dos modelos una superposición evidente de los resultados obtenidos para todos los parámetros (valores de R² e IC) en ambos sexos (Tabla 15).

Teniendo en cuenta estos resultados, y teniendo en cuenta que el modelo de Gompertz es el más frecuentemente utilizado en la literatura para describir el crecimiento de esa y otras

especies cetáceas, el resto de los resultados se analizaron con base en él. Principalmente para permitir comparaciones intra- y interespecíficas.

Según las predicciones de las ecuaciones de Gompertz, inicialmente las hembras crecen más y más rápido que los machos, hasta los cinco años, edad en la cual las longitudes se igualan (Fig. 23). Posterior a esa edad, la longitud de los machos va a ser superior. En las hembras el 75% de la longitud asintótica es alcanzado al año de vida, mientras que en los machos eso sucede a los 2 años; el 90% del crecimiento asintótico es alcanzado a los 4,7 y 5,8 años respectivamente. El crecimiento en los machos presenta una mayor duración, alcanzando el 95% de la longitud final a los 8,4 años y el 99% a los 13,3. Para las hembras estos porcentajes se alcanzan a los 7,2 y 12,2 años de vida. La longitud final se alcanza a los 16,4 y 17,5 años, para hembras y machos respectivamente. Además, la longitud asintótica obtenida a través de la ecuación de Gompertz fue mayor para los machos que para las hembras. La tasa de crecimiento inicial (b) fue superior en los machos, mientras que la tasa de disminución del crecimiento (k) fue la misma para ambos sexos.

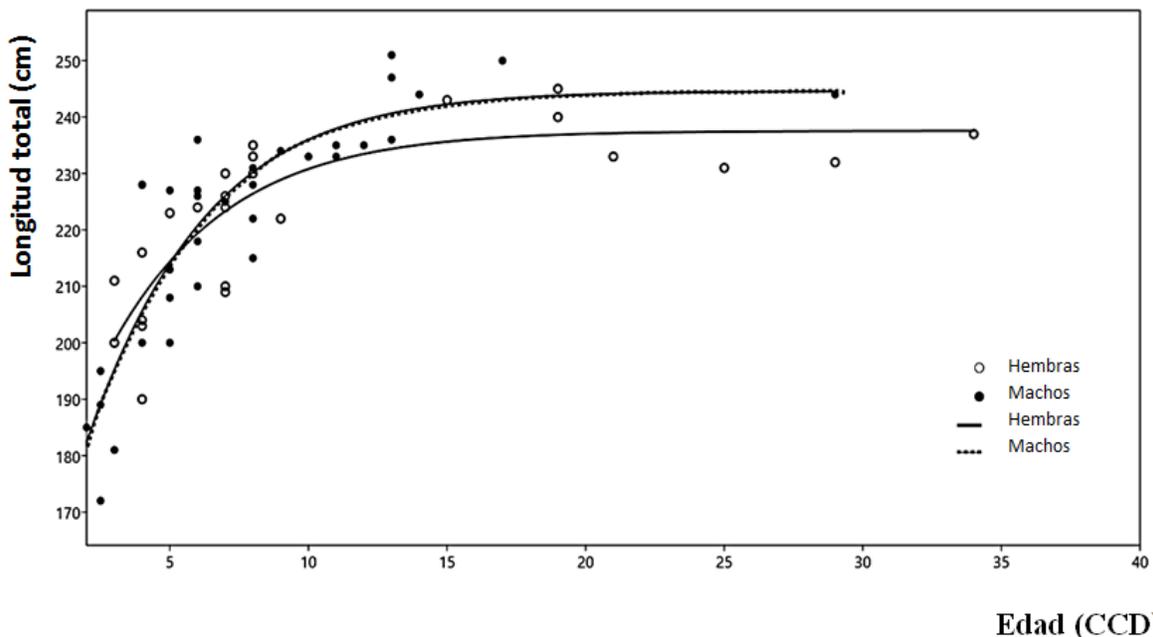


Figura 23: Ajuste del modelo de Gompertz a los datos de crecimiento ajustados con las edades estimadas por las capas de dentina en ambos sexos de delfines *Tursiops truncatus* en Cuba.

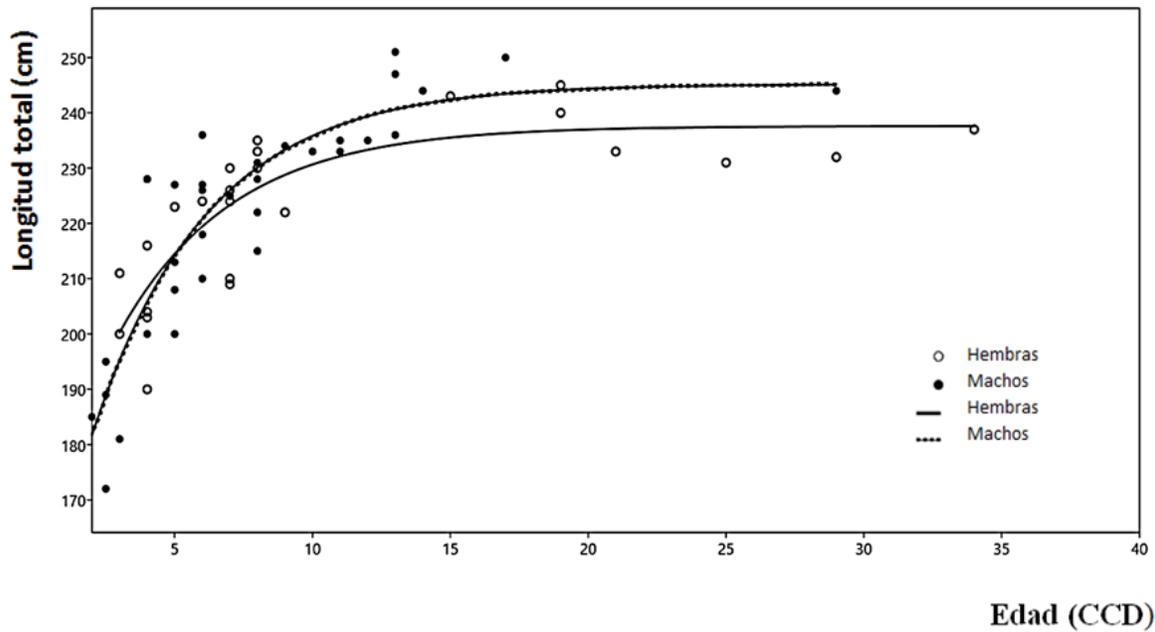


Figura 24: Ajuste del modelo de Von Bertalanffy a los datos de crecimiento ajustados con las edades estimadas por las capas de dentina en ambos sexos de delfines *Tursiops truncatus* en Cuba.

Tabla 15: resultados de las regresiones no lineales con los datos de crecimiento de los delfines *Tursiops truncatus*, a partir de las edades estimadas por las capas de dentina y para dos ecuaciones generales de crecimiento.

Sexo	Modelos	$L_{\infty} \pm SE$	$b \pm SE$	$k \pm ES$	RSS	R^2	AICc
Hembras (n=24)	Gompertz	237,39 ± 3,62 (229,8-244,9)	0,38 ± 0,13 (0,11-0,65)	0,26 ± 0,087 (0,08-0,45)	1563,1	0,681	1481,1
	von Bertalanffy	237,44 ± 3,68 (229,9-245,1)	0,34 ± 0,11 (0,11-0,56)	0,25 ± 0,08 (0,07-0,43)	1569,4	0,680	1488,2
Machos (n=34)	Gompertz	244,68 ± 5,14 (234,1-255,2)	0,49 ± 0,08 (0,33-0,66)	0,26 ± 0,063 (0,13-0,39)	2993,6	0,777	2932,9
	von Bertalanffy	245,28 ± 5,4 (234,3-256,3)	0,42 ± 0,06 (0,29-0,54)	0,23 ± 0,06 (0,12-0,36)	2967,7	0,779	2907,9

Con respecto al grosor de las capas crecimiento de dentina (GLC), en general y como era de esperar, el ancho de los GLC disminuye con la edad. El grosor del primer GLC fue relativamente superior al resto de los GLC y generalmente similar con el del segundo. Por otro lado, el grosor del tercer GLC fue notablemente inferior al de los GLC 1, GLC 2 y GLC 4. Aunque las hembras presentaron una anchura ligeramente superior en el GLG1, la deposición de dentina parece ser similar para ambos sexos en los primeros y en los últimos GLC.

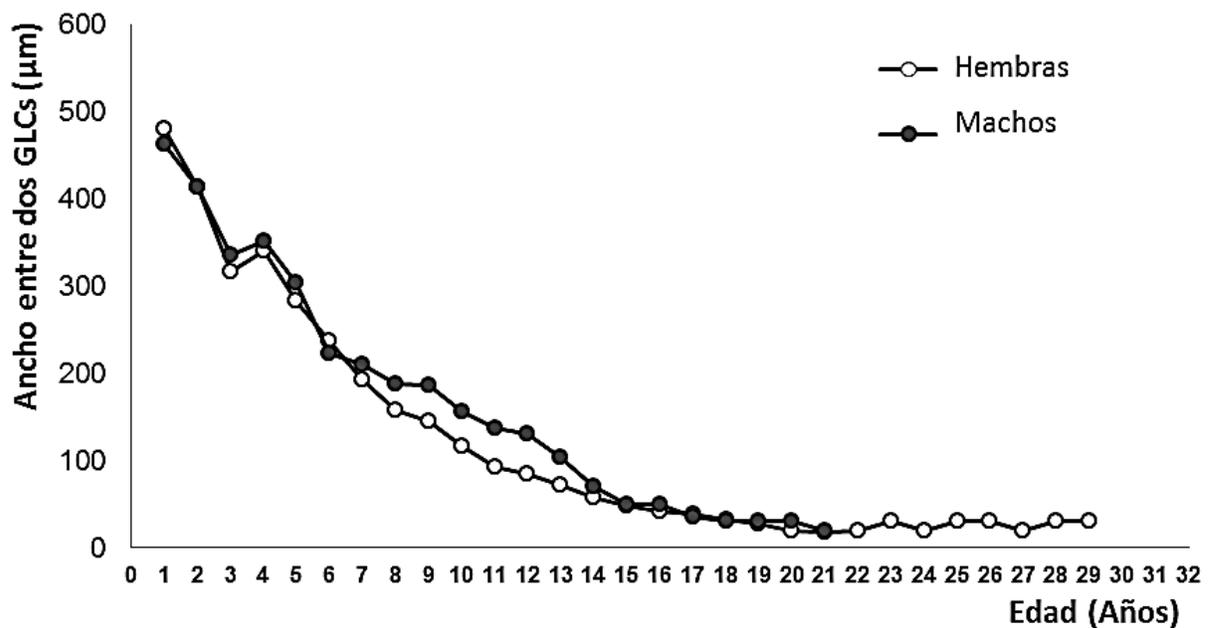


Figura 25: Cambio en el ancho de capas de crecimiento de la dentina con la edad en ambos sexos de delfines *Tursiops truncatus* en Cuba.

A partir del GLC 8 la anchura de las capas de deposición de dentina es superior en machos que en hembras, aunque la capa corresponde al GLC 12 fue el único que presentó diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 16: Valores medios del grosor de las capas de dentina por edad, y su comparación entre sexos en delfines *Tursiops truncatus* en Cuba.

GLC	Sexo	N	Media	DP	U de Mann-Whitney	Z	p																																																																																																																																																																																																																																												
1	F	24	481,3	61,0	350,0	-0,92	0,377																																																																																																																																																																																																																																												
	M	34	462,9	53,2				2	F	24	414,2	66,8	393,5	-0,23	0,826	M	34	413,5	60,8	3	F	24	316,3	59,5	297,5	-1,09	0,276	M	30	336,0	64,2	4	F	22	341,4	74,0	306,0	-0,25	0,809	M	29	352,8	55,6	5	F	18	283,3	71,9	194,0	-0,76	0,461	M	25	304,0	58,2	6	F	17	237,6	52,9	174,5	-0,58	0,572	M	23	222,6	61,2	7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299	M	17	211,2	44,7	8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000
2	F	24	414,2	66,8	393,5	-0,23	0,826																																																																																																																																																																																																																																												
	M	34	413,5	60,8				3	F	24	316,3	59,5	297,5	-1,09	0,276	M	30	336,0	64,2	4	F	22	341,4	74,0	306,0	-0,25	0,809	M	29	352,8	55,6	5	F	18	283,3	71,9	194,0	-0,76	0,461	M	25	304,0	58,2	6	F	17	237,6	52,9	174,5	-0,58	0,572	M	23	222,6	61,2	7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299	M	17	211,2	44,7	8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-								
3	F	24	316,3	59,5	297,5	-1,09	0,276																																																																																																																																																																																																																																												
	M	30	336,0	64,2				4	F	22	341,4	74,0	306,0	-0,25	0,809	M	29	352,8	55,6	5	F	18	283,3	71,9	194,0	-0,76	0,461	M	25	304,0	58,2	6	F	17	237,6	52,9	174,5	-0,58	0,572	M	23	222,6	61,2	7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299	M	17	211,2	44,7	8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																				
4	F	22	341,4	74,0	306,0	-0,25	0,809																																																																																																																																																																																																																																												
	M	29	352,8	55,6				5	F	18	283,3	71,9	194,0	-0,76	0,461	M	25	304,0	58,2	6	F	17	237,6	52,9	174,5	-0,58	0,572	M	23	222,6	61,2	7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299	M	17	211,2	44,7	8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																
5	F	18	283,3	71,9	194,0	-0,76	0,461																																																																																																																																																																																																																																												
	M	25	304,0	58,2				6	F	17	237,6	52,9	174,5	-0,58	0,572	M	23	222,6	61,2	7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299	M	17	211,2	44,7	8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																												
6	F	17	237,6	52,9	174,5	-0,58	0,572																																																																																																																																																																																																																																												
	M	23	222,6	61,2				7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299	M	17	211,2	44,7	8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																								
7	F	16	193,8	67,1	106,5	-1,07	0,299																																																																																																																																																																																																																																												
	M	17	211,2	44,7				8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193	M	15	182,7	51,5	9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																				
8	F	11	157,3	43,1	56,5	-1,36	0,193																																																																																																																																																																																																																																												
	M	15	182,7	51,5				9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143	M	11	186,4	43,9	10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																
9	F	8	145,0	52,9	26,0	-1,49	0,143																																																																																																																																																																																																																																												
	M	11	186,4	43,9				10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077	M	10	156,0	47,2	11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																												
10	F	7	117,1	23,6	17,0	-1,77	0,077																																																																																																																																																																																																																																												
	M	10	156,0	47,2				11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094	M	9	136,7	51,7	12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																								
11	F	7	92,9	19,8	15,5	-1,71	0,094																																																																																																																																																																																																																																												
	M	9	136,7	51,7				12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*	M	7	131,4	50,1	13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																				
12	F	7	84,3	23,7	8,5	-2,07	0,0379*																																																																																																																																																																																																																																												
	M	7	131,4	50,1				13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166	M	6	103,3	40,8	14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																
13	F	7	71,4	26,7	11,0	-1,44	0,166																																																																																																																																																																																																																																												
	M	6	103,3	40,8				14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948	M	3	70,0	43,6	15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																												
14	F	7	58,6	26,7	10,0	-0,12	0,948																																																																																																																																																																																																																																												
	M	3	70,0	43,6				15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949	M	2	50,0	14,1	16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																								
15	F	7	48,6	21,9	6,5	-0,15	0,949																																																																																																																																																																																																																																												
	M	2	50,0	14,1				16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388	M	2	50,0	0,0	17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																				
16	F	6	41,7	23,2	3,0	-1,03	0,388																																																																																																																																																																																																																																												
	M	2	50,0	0,0				17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000	M	2	35,0	7,1	18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																																
17	F	6	38,3	24,8	6,0	0,00	1,000																																																																																																																																																																																																																																												
	M	2	35,0	7,1				18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000	M	1	30,0	-	19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																																												
18	F	6	31,7	24,0	2,5	-0,25	1,000																																																																																																																																																																																																																																												
	M	1	30,0	-				19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000	M	1	30,0	-	20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																																																								
19	F	6	28,3	17,2	2,0	-0,52	1,000																																																																																																																																																																																																																																												
	M	1	30,0	-				20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195	M	1	30,0	-	21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																																																																				
20	F	4	20,0	0,0	0,0	-2,00	0,195																																																																																																																																																																																																																																												
	M	1	30,0	-				21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																																																																																
21	F	4	17,5	9,6	1,5	-0,37	1,000																																																																																																																																																																																																																																												
	M	1	20,0	-																																																																																																																																																																																																																																															

Análisis del crecimiento por el método de mediciones directas

Al comparar las variables morfométricas empleadas para el análisis del crecimiento entre hembras y machos de delfines no detectaron diferencias significativas para ninguna de las variables medidas. Por esta razón, para este método de análisis del crecimiento no se separaron los datos por sexos.

Al construir las curvas de crecimiento de la longitud total (Fig.26) se observa una superposición marcada entre las curvas obtenidas por los dos métodos (directo y a través de las capas de crecimiento de dentina), en la primera década de vida de los delfines, lo cual valida ambos métodos entre sí. Sin embargo, queda la incertidumbre del comportamiento de las curvas en la zona de la asíntota, pues las edades de los delfines de la muestra analizada por el método directo no alcanzaron dicha zona.

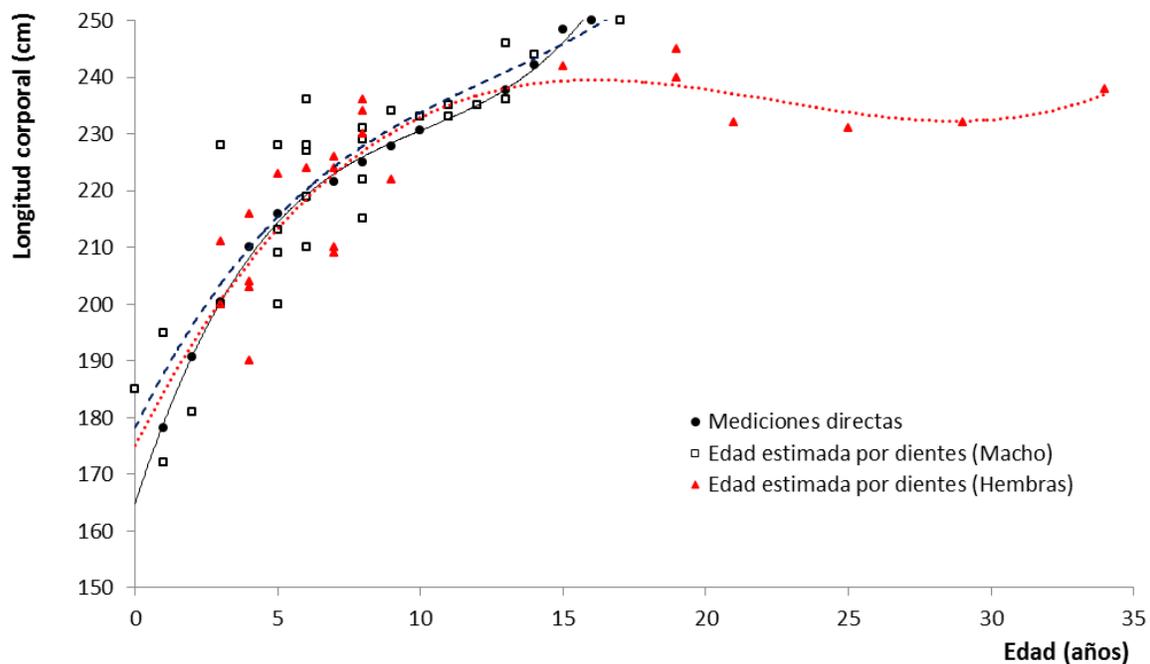


Figura 26: Comparación de las curvas de crecimiento de la longitud corporal de los delfines *T. truncatus* según los dos métodos empleados en el presente estudio.

A todos los datos se les realizaron los ajustes no lineales a las ecuaciones de crecimiento de Gompertz, Von Bertalanffy y Richards de cuatro parámetros. El mejor ajuste se obtuvo mediante el modelo generalizado de Richards cuyos parámetros estimados se muestran en la Tabla 17. El método de mediciones directas tuvo menos variabilidad que el de las capas de dentina, lo que rindió coeficientes de determinación superiores en las regresiones.

Tabla 17: Parámetros de la ecuación de Richards ajustada a los datos de crecimiento de la longitud total de los delfines *Tursiops truncatus*, obtenidos por mediciones directas y por el conteo de las capas de dentina.

Tipo de curva	a	b	c	d	r
Por mediciones directas	252,530	-0,7331	0,1712	1,0507	0,987
Por capas del diente (hembras)	237,045	7,4290	0,7856	31,999	0,845
Por capas del diente (machos)	248,596	-0,2622	0,1988	1,7368	0,889

La comparación de las tasas de crecimiento instantáneas de la longitud total, evaluadas por el método directo, detectó diferencias significativas entre hembras y machos: $TCR_{\text{hembras}}=0,0254\pm 0,0028$ vs $TCR_{\text{machos}}=0,0453\pm 0,0099$ ($t=-2.92$, $gl=109$, $p<0,01$). Las hembras tienen una menor tasa de crecimiento relativo en comparación con los machos. Si bien este resultado resulta aparentemente contradictorio entre los dos métodos, hay que analizar el grado de dispersión que presentan los resultados basados en el conteo de capas de dentina, que pueden enmascarar los resultados.

El análisis de las tasas de crecimiento de tres de las variables morfométricas más asociadas (Largo total, Ancho Aleta Caudal y Longitud Anterior de la Aleta Pectoral) muestra la tendencia a la disminución de sus tasas de crecimiento con la edad, consistente con el alcance de la asíntota de crecimiento (Fig. 27). Las dimensiones de las aletas caudales tuvieron un patrón más disperso en relación con la longitud corporal. Las tasas de crecimiento relativas de estas extremidades, por su parte, muestran también diferencias significativas entre sexos, lo que sugiere formas de crecimiento diferentes entre los sexos durante la ontogenia.

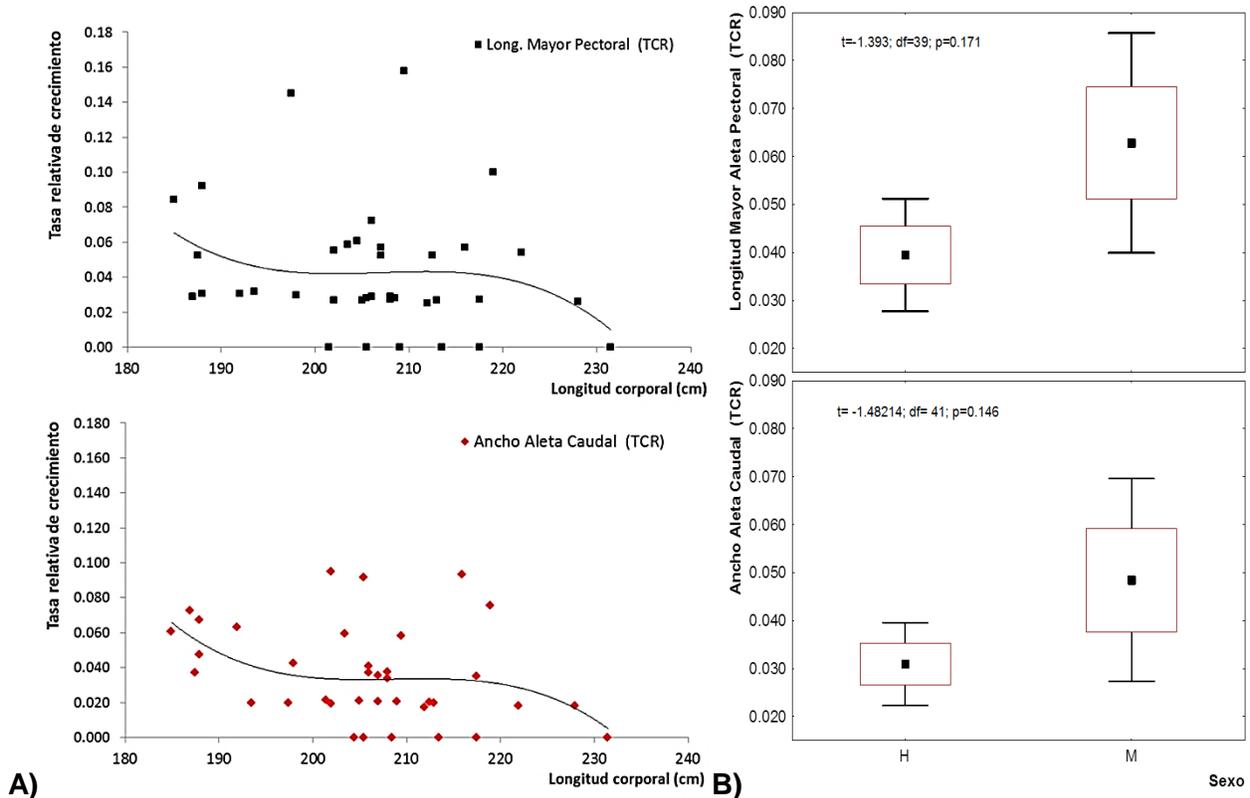


Figura 27: Cambios en las tasas de crecimiento de tres variables morfométricas de los delfines *T. truncatus* con el incremento de la longitud corporal (A) y comparación de las tasas de crecimientos medias entre sexos (B).

Al representar en una figura tridimensional las tres variables cuyo crecimiento fue analizado se puede observar mejor esta presunción de diferentes patrones de crecimiento entre sexos (Fig. 27). En análisis de correlaciones entre las tres variables analizadas se aprecia una mayor correlación entre las tasas de crecimiento relativas de los dos tipos de aletas ($r=0.36$, $p<0.05$). Sin embargo, no aparece una asociación significativa entre la velocidad de crecimiento relativa de las aletas pectorales y caudal con la longitud total del individuo ($r=0.21$, $r=0.16$, $p>0.05$). En otras palabras, al parecer existe cierta alometría en el crecimiento de las aletas entre ellas y este crecimiento es isométrico en relación con la longitud total del delfín. Por supuesto, estos resultados están sesgados por las diferencias en los tamaños de muestras entre hembras (17) y machos (3).

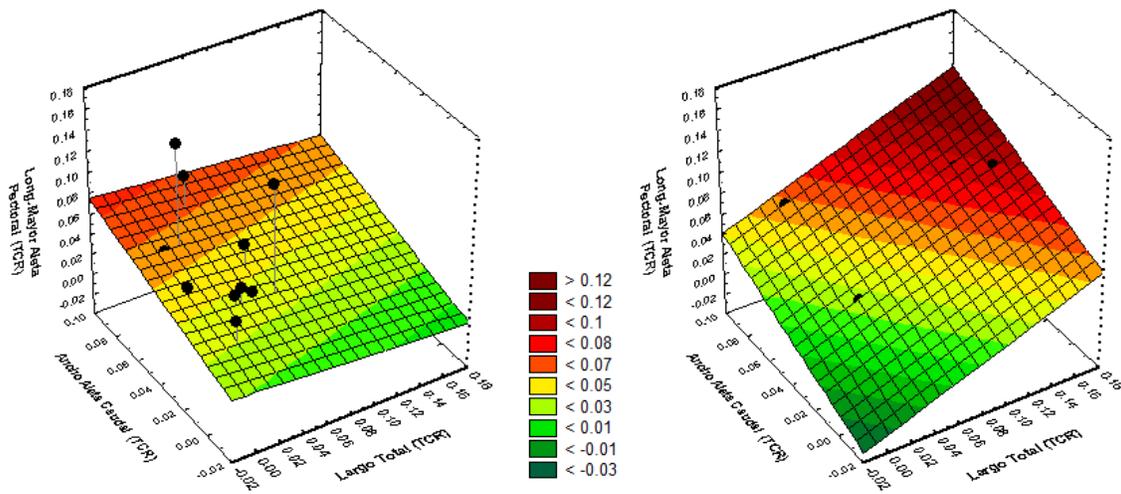


Figura 27: Representación 3D de las trayectorias morfológicas ontogenéticas de tres variables morfométricas de los delfines *T. truncatus* y su comparación entre sexos.

DISCUSIÓN

AVISTAMIENTOS, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN, CARACTERÍSTICAS GRUPALES DE DELFINES EN VARADERO

El estudio a largo plazo de las poblaciones de cetáceos y en particular de los delfines ha revelado complejas interacciones sociales y comportamientos adaptativos que operan a diferentes escalas espaciales y temporales (Connor *et al.*, 2000; Reynolds *et al.*, 2000). Esta complejidad debe ser tomada en consideración para cualquier investigación que se realice en la actualidad acerca de las características poblacionales de estas especies ya que determinar los límites entre demos y poblaciones son complejos (Sellas *et al.*, 2005). En el delfín tonina *Tursiops truncatus* se han identificado diversos comportamientos que incluyen poblaciones abiertas con amplio recambio de individuos proveniente de diversas localidades, poblaciones cerradas, estables determinadas por hábitos tróficos específicos y explotación de recursos locales (Hoelzel, 1998)

La mayoría de las investigaciones realizadas en el mundo sobre la especie *Tursiops truncatus* se han concentrado en las poblaciones del morfotipo costero que habitan tanto en estuarios y bahías como zonas costeras expuestas. Varios autores sugieren que la ecología de distribución de esta especie, al igual que la de otros cetáceos, está determinada por la distribución de los recursos alimentarios y factores que influyen en la reproducción y crianza (Barco *et al.*, 1999).

Basado en los resultados generales obtenidos en este proyecto se puede apreciar una estabilidad en los parámetros poblacionales de la especie en el área de la costa norte de la provincia de Matanzas por aproximadamente 15 años de estudio (Pérez-Cao, 2004, López *et al.*, 2012, López *et al.*, 2014)

El sitio de más avistamientos de delfines fue en la franja norte de la península de Hicacos, principalmente, en los alrededores del canal de Buba, lo que coincide con lo encontrado por Pérez-Cao (2009). Esta zona es la porción más externa del área de estudio y se diferencia de la bahía de Cárdenas por presentar mejores condiciones oceanográficas-topográficas, que permiten a los delfines capturar sus presas más fácilmente, y además cuenta con mayor riqueza de especies de presas (CUB/98/G32, 2001a). La relación entre la frecuencia de

avistamientos y la concentración de los recursos alimentarios ha sido señalada con frecuencia en la literatura (Delgado, 2002; Morteo *et al.*, 2004).

La observación frecuente de grupos de uno a ocho individuos indica que esta población se caracteriza por formar unidades sociales de forrajeo pequeñas (1-6, ocasionalmente hasta 30 individuos). El tamaño de grupo promedio encontrado en la población es semejante al reportado para áreas del golfo de México, como por ejemplo: 7,5 indiv/grupo en la laguna de Yalahau, México (Delgado 1997); 6,37 indiv/grupo en el área adyacente a Isla Holbox, México (Lechuga *et al.*, 1995citado por Delgado, 1997). Estos patrones de agrupamiento fueron similares a los reportados para delfines costeros en otras áreas, como por ejemplo la costa oeste de La Florida (Wells, 1986; Shane, 1990) y a lo largo de la costa de Texas (Maze y Würsig, 1999).

Durante el período analizado no se pudo identificar períodos de máxima actividad reproductiva con precisión. Se detectaron crías en prácticamente todos los meses de año pero muy pocos reportes de neonatos (menores de tres meses de edad según Delgado, 2002). Estas observaciones permiten argumentar la hipótesis propuesta por López *et al.* (2012) referente a la existencia de un área adyacente y resguardada donde ocurren los nacimientos y las madres con las crías se aventuran a las zonas más expuestas de Varadero, después de un tiempo corto, en busca de mejores condiciones de alimentación. Esta hipótesis es sustentada también por los resultados de López *et al.*, (2014) quienes encontraron en la Bahía de Santa Clara individuos fotoidentificados en Varadero. Además en esa nueva área se reportaron grupos con crías. No obstante, el porcentaje de crías respecto a adultos registrados en este trabajo coinciden con los hallados en otras poblaciones costeras de la especie: 9,7 % en La Florida (Weigle, 1990) y entre 4 % y 6 % en las zonas marinas de Tabasco y Yucatán respectivamente (Delgado, 2002).

La densidades poblacionales de delfines en la costa norte de Matanzas, Cuba, se encuentra entre los valores registrados en otras poblaciones costeras de diferentes partes del mundo, 0 y 3 delfines/km² (Mullin *et al.*, 1990; Ortega, 1996; Wells y Scott, 1999). A diferencia de lo expresado por Pérez-Cao *et al.*(2009) para el área, se observa que a largo plazo parece existir un incremento del número de delfines en los meses de mayor precipitación, lo que puede relacionarse con la concentración de especies presas (Ej. familia Lutjanidae), ya que se tiene evidencia de delfines alimentándose de pargo criollo *Lujanus analis* en las salidas

realizadas en esos meses. Por otra parte, el forrajeo es la conducta mayormente observada en los grupos avistados durante la investigación.

El análisis de los reavistamientos a largo plazo de los delfines apoya la hipótesis de que el área sostiene un núcleo poblacional, relativamente pequeño, con cierto grado de residencia o filopatría. De los animales reavistados con mayor frecuencia solo 21 pueden ser clasificados como residentes temporales (reavistados en más de ocho ocasiones). Al parecer estos delfines se comportan como núcleos de entrada y salida de nuevos individuos al área. No obstante, se podría decir que los patrones de fidelidad al área de los delfines en la costa norte de la provincia de Matanzas parecen ser similares a los reportados para los delfines a lo largo de la costa de Texas, donde algunos individuos son residentes, mientras que otros aparentan ser transeúntes o visitantes ocasionales de áreas adyacentes (Maze y Würsig, 1999).

Estos estimados de abundancia de los delfines en el área de estudio solo deben ser usados como tal debido a que no tienen la suficiente precisión para ser empleados como base a planes de explotación de las poblaciones. De acuerdo con Scott (1990) la residencia de delfines en un área particular no es prueba suficiente de que estos constituyan un stock aislado. Es necesario evaluar el grado de aislamiento y la tasa de intercambio genético entre grupos locales para poder concluir al respecto con una base sólida, y vincular observaciones ecológicas con la evidencia genética.

EVALUACIÓN CLÍNICA DE DELFINES EN EL ÁREA DE CAPTURA

Los estudios de hematología son herramientas clave para determinar el estado de salud de los mamíferos marinos en poblaciones cautivas y silvestres (Pogue y Maiden, 2014). Las grandes variaciones de los valores promedio en la química sanguínea pueden significar enfermedad o estrés causado por enfermedad, manejo o una combinación de factores ambientales. Sin embargo, pocos estudios hematológicos exhaustivos se han realizado sobre mamíferos marinos (Fair, 2006).

En todos los casos estos valores son de animales sanos, clínicamente normales y en buen estado corporal. Los rangos descritos para la especie se han determinado fundamentalmente mediante el cálculo de percentiles del 25 al 75% alrededor de las medianas individuales y los menos, se calcularon como ± 2 desviaciones estándar alrededor

del medio (Bossart *et al.*, 2001, Schwacke *et al.*, 2009, Pogue y Maiden, 2014). Sin restar importancia a cada una de estas aproximaciones, en ninguno de los casos se ha tenido en cuenta que un individuo puede manifestarse asintomático a los métodos de diagnóstico empleados y aún padecer alguna patología. Los análisis multivariados vienen a ser una solución certera a este problema al determinar asociaciones no métricas entre individuos.

Los valores reportados en el presente estudio se ajustan a los descritos para la especie en la literatura, aunque en rangos generalmente más estrechos. Destaca el desplazamiento de los rangos de la urea a valores más altos y que solo han sido documentados tan altos (>82 mg/dl) para animales jóvenes de la especie por Schwacke *et al.* (2009). Estos autores, pese a la dispersión evidente en sus datos, reportan correlación de algunos parámetros como Urea, Creatinina, Fosfatasa Alcalina, Glucosa, Triglicéridos y algunas transaminasas (indicadores de funcionamiento de hígado y riñón) con las tallas de los delfines. También encuentran diferencias entre sexos en parámetros como eritrocitos (en machos son superiores) y la creatinina (mayor en las hembras). No obstante no dan explicación posible a estos hallazgos y algo interesante, en este estudio se incluyeron todos los animales capturados sin importar el estado de salud. Es importante destacar que en el presente estudio no se encontraron relaciones concluyentes entre las patologías estudiadas y alteraciones en los rangos hematológicos, similar a lo reportado por Pogue y Maiden (2014). Al no existir esta especificidad, los análisis hematológicos solo pueden ser considerados como un apoyo. Siguen siendo los métodos diagnósticos la forma más confiable y certera de detección de patologías.

Se debe reconocer que los valores de sangre proporcionados siguen siendo pautas; aún se necesita establecer líneas base para cada mamífero marino individual antes de estar seguro de que cualquier valor particular es anormal. Además, el cautiverio exige ajustes fisiológicos que pueden reflejarse en los valores de laboratorio clínico (Hall *et al.*, 2007). El grado en que estos ajustes afectan los valores de sangre necesita más estudio. Nada puede reemplazar el proceso de establecer valores de referencia semestrales para cada animal individual durante los exámenes físicos regulares, de rutina y programados. La capacidad de diagnosticar enfermedades y monitorear las respuestas al tratamiento está ligada a las desviaciones de los datos de línea base de un animal individual

Al analizar las enfermedades en los mamíferos marinos es importante conocer su prevalencia en las poblaciones naturales, sus vías de transmisión entre organismos y el carácter zoonótico que pudieran tener (Tryland, 2000). Se sabe que todos los mamíferos son susceptibles a la invasión de una gran variedad de organismos infecciosos a través de heridas en la piel, la vía oral o la respiratoria (Smith, 2002).

Las principales enfermedades detectadas en delfines, en su medio natural, también han sido descritas como las principales en otras poblaciones de la especie en el mundo, así como, de los ejemplares mantenidos bajo condiciones controladas en parques acuáticos y acuarios (Bossart *et al.*, 2007). Estas enfermedades, además, son normalmente de rápida recuperación y no necesitan de seguimiento clínico en la mayoría de los casos. Por lo que se puede considerar nuestra población de delfines como sana, de modo similar a la evaluación de López *et al.* (2014).

Entre las enfermedades de mayor ocurrencia en mamíferos marinos están las que afectan el sistema respiratorio, por ser este un sistema desprotegido como respuesta a las adaptaciones al medio acuático. Las características anatómicas de este sistema permiten el paso fácil de múltiples microorganismos debido a que carecen de los sofisticados mecanismos de protección con que cuentan los mamíferos terrestres (Lacave, 1993).

Los resultados que se obtuvieron arrojaron que del total de microorganismos aislados e identificados (29), el mayor porcentaje fue de agentes bacterianos (86.2%). Estas frecuencias pudieran considerarse inferiores a las reportado por López *et al.* (2014) para la misma población, sin embargo en el presente estudio se aíslan e identifican 16 nuevos agentes etiológicos causantes de afecciones respiratorias. Estos reportes coinciden con estudios realizados en otras poblaciones y que relacionan a *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio damsela*, *Proteus spp*, *Serratia spp*, *Citrobacterfreundii*, *Morganella morgani*, *Micrococcus luteus* y *Pasteurella multocida* como bacterias patógenas causantes de afecciones respiratorias en poblaciones de mamíferos marinos en vida libre (Higgins, 2000; Parsons y Jefferson, 2000; Ziesenis *et al.*, 2000 y Dunn *et al.*, 2001).

Aunque el tamaño de muestra sigue siendo pequeño es importante destacar que todos los microorganismos aislados en este estudio y reportados en la literatura como causantes de

enfermedades respiratorias en delfines *Tursiops truncatus* en vida libre no siempre se expresan con manifestaciones clínicas en el momento del examen. Los microorganismos con mayor incidencia en animales sintomáticos fueron *Proteus vulgaris* y *Vibrio damsela* resultados que coinciden con estudios realizados por Guevara *et al.* (1997).

Este tipo de estudios brinda elementos para conocer la circulación de microorganismos en la población de delfines *Tursiops truncatus* en la región central del archipiélago Sabana-Camagüey, lo cual favorece los programas de medicinas preventivas de la especie bajo condiciones controladas.

En cuanto a la gingivitis, la aparición de esta enfermedad digestiva, en mayor frecuencia que las relacionadas con los sistemas respiratorio y reproductivo, puede estar dada por varios factores como: determinadas conductas alimenticias (Shane, 1980) y agentes estresores Curry (1999). Se ha vinculado además con la aparición de úlceras gástricas en esta especie de cetáceo (Dierauf y Gulland, 2001) y vinculadas mayormente a estudios en cautiverio.

Otra enfermedad digestiva que se reportó para nuestras poblaciones de delfines y que puede llegar a incidir en la supervivencia de los individuos es la hepatitis, aunque su presencia se detectó en animales cautivos fundamentalmente. Los anticuerpos contra el virus de la hepatitis E (VHE) se han detectado en una amplia variedad de especies de animales terrestres, con la mayor prevalencia reportada en muestras de cerdos (Dong *et al.*, 2011). En ambientes acuáticos, se han reportado infecciones de este virus en mariscos (Crossan *et al.*, 2012, Gao *et al.*, 2016), mientras que la evidencia de exposición a VHE en mamíferos marinos no ha sido previamente documentada.

Los delfines en cautiverio generalmente son alimentados con peces y calamares. En este estudio, la ingestión de alimentos contaminados pudiera haber sido la fuente de VHE. Sin embargo, solo unos pocos (10%) de los delfines expuestos que mostraron signos clínicos fueron anti-VHE positivos. Es poco probable también que los delfines cautivos sean reservorios y/o fuentes potenciales de infección por VHE porque no se detectó evidencia de seroconversión o de ARN viral en ninguno de los entrenadores o veterinarios. Dado el contacto íntimo entre delfines y humanos en condiciones de cautiverio, no debe ignorarse el riesgo potencial de transmisión zoonótica de este virus.

El título viral más alto se encontró a 4 y 7 dpi en una de las muestras, similar a los resultados previos usando sueros, suspensiones de heces y muestras homogéneas de hígado (Takahashi *et al.*, 2012). Estos autores encontraron que la carga viral alcanzó 10^5 copias ml^{-1} en el periodo de 4 a 6 dpi. La hepatitis reactiva crónica no específica y el aumento de las actividades de las aminotransferasas séricas no son infrecuentes en los delfines (Venn-Watson *et al.*, 2008). Algunas causas incluyen: *Sarcocystis spp.* (Resendes *et al.*, 2002), tremátodos biliares (Dailey y Stroud, 1978), infección viral tipo hepatitis B (Bossart *et al.*, 1990), inmunodeficiencia adquirida (Bossart, 2011) y desordenes metabólicos (Venn-Watson *et al.*, 2008).

Debido a que la cantidad de datos de secuencia genómica generados a partir de las dos muestras positivas de delfines VHE es limitada, y atendiendo a la presentación clínica y los valores serológicos presentados, el origen de la infección de los delfines pudo haber sido alguna fuente contaminante de origen humano o porcino, que albergan cepas del genotipo VHE 3. Las secuencias de aminoácidos del delfín VHE RdRp idénticas o casi idénticas a muchos reportes en humanos y porcinos en todo el mundo corroboran esta hipótesis.

La brucelosis ha sido reportada en la especie *Tursiops truncatus* (Foster *et al.*, 1996) empleando varios métodos de diagnóstico. Específicamente, el diagnóstico de *Brucella spp.* a partir de muestras serológicas en mamíferos marinos es considerado potencialmente problemático (Shaefer *et al.*, 2011) pues existe controversia sobre el grado de acuerdo entre las nuevas técnicas y algunas de las técnicas clásicas utilizadas en especies agrícolas. Las técnicas más antiguas pueden producir un mayor número de falsos positivos cuando se emplean en muestras de mamíferos marinos. (Miller *et al.*, 2001)

La presencia de títulos de anticuerpos contra *Brucella spp.* en solo una pequeña fracción de la muestra de delfines estudiada, si bien pudiera indicar la circulación de algún serotipo; no muestra un patrón confiable que permita afirmar la validez de cualquiera de los cuatro métodos empleados o que el empleo de *B. abortus* es el correcto. Se sabe que existen varios serotipos que afectan a los mamíferos marinos y que estos muestran considerables diferencias con las variedades terrestres (Bricker *et al.*, 2000; Dunn *et al.*, 2001; Shaefer *et al.*, 2011) Se debe tener en cuenta que único método de diagnóstico definitivo y confiable es el aislamiento directo de la cepa *Brucella* circulante.

MODELACIÓN DE CRECIMIENTO DE DELFINES.

Otro aspecto que varía mucho en la especie analizada en este proyecto son sus medidas morfométricas y consecuentemente las curvas de crecimiento que exhiben según la ubicación geográfica. Para ello fue necesario la determinación de la edad a partir del conteo de las capas de crecimiento de dentina tomando como criterio que cada capa de crecimiento es el equivalente a un año de vida (Lockyer, 2006). Aunque en esta oportunidad se pudo emplear la misma técnica que sigue la autora y que incluye descalcificación y cortes con micrótomos; el lijado de la muestra puede ser igualmente efectivo (Delgado¹, *com. pers.*) y más barato. La obtención de láminas finas de cada diente permite el conteo de las capas y la tinción superficial con eosina permite discriminar aún mejor las sesiones y brindar resultados más confiables.

Con las curvas construidas a partir los dos métodos empleados en este estudio, directo (n=20) e indirecto (n=58), no se encontró diferencias significativas entre los las longitudes totales de hembras y machos. Esto prueba la presunción de Blanco y Olachea (2000) y López *et al.* (2012) con respecto a la no existencia de diferencias sexuales en cuanto al tamaño de los delfines adultos en la población estudiada. En estudios de Romero y Delgado (2015) con toninas cubanas mantenidas en cautiverio en instalaciones mexicanas, se reporta también el mismo resultado.

Aunque se plantea que las medidas varían entre las diferentes poblaciones de delfines toninas, se generaliza que los machos son de mayor tamaño (Smith, 2002). Read *et al.* (1993) obtuvieron longitudes totales de 250.1 cm en hembras de tonina y de 263.4 cm en machos de la Florida. Fernández y Hohn (1998) determinaron longitudes asintóticas de 268 cm en machos y de 246.7 cm en hembras de toninas de Texas. Cockroft y Ross (1990) reportaron 243cm en machos adultos y 238cm en toninas hembras adultas en Sudáfrica. Nuestros resultados son claramente menores que los reportados para otras poblaciones de América, lo que pudiera estar sesgado por la selección de individuos a la hora de la captura (aspecto que es discutido más adelante).

La especie se describe como sexualmente dimórfica sin embargo, esto sólo se hace aparente en algunas localidades, por ejemplo, los estudios realizados por Hersh *et al.* (1990) y Mead y Potter (1990) sugieren que las poblaciones de la costa oeste del Atlántico norte y

¹ Dr. Alberto Delgado. Jefe de Investigación Científica. UNACAR, México

del norte del Golfo de México no presentan dimorfismo sexual aparente. En Moray Firth, Escocia, por otra parte, el dimorfismo se hace evidente en el tamaño y la forma de la aleta dorsal (Eisfeld, 2003). Blanco y Olachea (2000) señalan que si bien el largo total no difiere entre sexos para los delfines cubanos, si muestran diferencias sexuales en otras medidas como la distancia morro-aleta pectoral y algunas distancias ventrales.

En cuanto la correlación fuerte encontrada entre algunas variables morfométricas, coincide con lo reportado para la especie por Cockcroft y Ross (1988) y Read *et al.* (1993) y para otras especies de delfines como el delfín chileno *Cephalorhynchus eutropias* (Molina y Reyes, 1996).

Pese a que estadísticamente las curvas de crecimiento no muestran diferencias significativas, cabe destacar que las tasas de crecimiento anuales sí (método directo). Al parecer las hembras tienen una menor tasa de crecimiento relativo en comparación con los machos. La modelación tridimensional de algunas variables morfométricas que además muestran crecimientos isométricos con respecto a la longitud total, también sugieren diferencias en las formas de crecimiento entre sexos. Estos resultados contrastan con las investigaciones sobre el crecimiento de los individuos al oeste de la Florida, las cuales han demostrado que las hembras crecen inicialmente más rápido y alcanzan tamaños asintóticos a edades más tempranas (12 años) que los machos (20 años) (Read *et al.*, 1993). Observaciones similares han sido realizadas por Cockcroft y Ross (1988) en Sudáfrica. Curiosamente Romero y Delgado (2015) reportan un resultado idéntico al nuestro para la población de delfines cautivos de México. Según estos autores intentan explicar mediante la teoría de que los delfines nacidos en cautiverio viven bajo condiciones constantes, con regímenes alimenticios controlados y sin problemas de depredación, por lo que las diferencias sexuales en cuanto a tamaño, que en los animales de vida libre es evidente hasta la edad adulta, en cautiverio se presentan a temprana edad.

En nuestro caso afirmar esta diferencia sería un error teniendo en cuenta el tamaño de muestra empleado en este método (3 machos vs. 17 hembras) por lo que se necesita incrementar la cantidad de machos a analizar.

La obtención de una mayor abundancia de subadultos en la composición etaria de esta población puede deberse a dos razones fundamentales. Primeramente, a un posible sesgo en la selección de los grupos a capturar. Esto puede deberse a que estos grupos tienden a ser de mayor tamaño y sus conductas más exhibicionistas (saltos, piruetas), lo que los hacen más fácilmente detectables a largas distancias. A pesar de esto, debido al tipo de

estructura fisión–fusión (Connor *et al.*, 2000) que presenta la especie, también cabe la posibilidad de que en el momento de la captura existieran grupos aleatorios transitorios que posteriormente tendieran a desintegrarse. La segunda razón puede ser la característica de los machos adultos *T. truncatus* de formar grupos de dos o tres individuos solamente. Esto hace que su avistamiento y captura sean más difíciles. A pesar de esto, se plantea también que los delfines machos *T. truncatus* subadultos o juveniles presentan amplios rangos y por ende, mayor interacción con otros grupos que los machos adultos (Connor *et al.*, 2000 y Archie *et al.*, 2008). En el caso de las hembras adultas, estas tienden a formar grupos estables casi siempre compuesto por crías y animales gestantes, y que se refugian en zonas más bajas y con mayor protección (Connor *et al.*, *op.cit.*).

CONCLUSIONES

- La población de delfines en la costa norte de la provincia de Matanzas mantiene estables sus parámetros poblacionales desde el año 2002. Un grupo de 21 delfines residentes constituyen los núcleos de entrada y salida de otros individuos a la población. Hasta la fecha un total de 167 delfines se han fotoidentificado en esta área.
- La población de delfines en la costa norte central del Archipiélago Sabana-Camagüey puede catalogarse como sana. Las enfermedades más frecuentes son las respiratorias, seguidas de las digestivas, todas de rápida recuperación.
- Es posible la detección de anticuerpos contra el Virus de la Hepatitis E y el aislamiento del ARN viral en muestras serológicas de delfines *Tursiops truncatus*. Esta afección es la causante del incremento de los valores séricos de las transaminasas en los animales afectados.
- En las poblaciones cubanas de delfines *Tursiops truncatus* no se observa dimorfismo sexual en cuanto a las medidas corporales del adulto, sin embargo las tasas de crecimiento instantáneas de algunas variables sugieren diferencias marcadas durante el crecimiento entre ambos sexos.

RECOMENDACIONES

- Intensificar y continuar el presente estudio mediante nuevos proyectos de investigación, donde se logre aumentar el número de muestras, para llegar a resultados más concisos y se trate de dar respuesta a las interrogantes pendientes.
- Reiniciar los estudios genéticos en la población estudiada con el objetivo de profundizar en los resultados alcanzados en el proyecto anterior.
- Publicar el catálogo de fotoidentificación de delfines de la zona de Varadero permitiendo así el intercambio de información con otros estudios similares en la zona del Golfo de México.
- Abogar por la protección de los delfines en la zona de la costa norte de Matanzas, evitando su extracción, particularmente de aquellos que pertenecen al catálogo fotográfico de la institución pues representan la base del estudio a largo plazo que por más de 15 años el Acuario Nacional de Cuba.
- La metodología empleada en esta investigación puede ser utilizada para desarrollar estudios similares en otras poblaciones de delfines en Cuba. En estas nuevas investigaciones es importante incrementar el esfuerzo de muestreo para obtener estimados más precisos de los parámetros poblacionales.

REFERENCIAS

- Alcolado PM, EE García y N Espinosa (1999). Protecting biodiversity and establishing sustainable development in the Sabana-Camagüey ecosystem. Global Environmental Facility (GEF/United Nations Development program (UNDP) Project Sabana-Camagüey, CUB/92/G31, Cuba. 145 p.
- AltizerS, DHarvell y E Friedle (2003). Rapid evolutionary dynamics and disease threats to biodiversity. *Trends Ecol Evol.* 18: 589–596.
- Álvarez A.; V Berovides y JL Collazo (2009). Abundancia y distribución de la tonina, *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821), en el área marina protegida “Las Picúas Cayo Cristo”, Villa Clara, Cuba. *Rev. Invest. Mar.* 30 (2).117-122
- Archie EA, JE Maldonado; JA Hollister-Smith; JH Poole; CJ Moss; RC Fleisher y SC Alberts (2008)Fine-scale population genetic structure in fission- fusion society.*Molecular Ecology* 17. 2666-2679.
- Barco SG, WM Swingle, WA McLellan, RN Harris y DA Pabst (1999)Local abundance and distribution of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the nearshore waters of Virginia Beach, Virginia.*Marine Mammal Sci.* 15(2). 394–408.
- Barros NB y R Wells. (1998). Prey and feeding patterns of resident bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Sarasota Bay, Florida. *Journal of Mammalogy* 79:1045–1059.
- Berta A, JL Sumich y KM Kovacs (2006) Marine mammals: evolutionary biology. Second Edition. Academic Press. 51-71.
- Bisping W y G Amtsberg(1988) Colour Atlas for the diagnosis of Bacterial Pathogens in *Animals*.*Paul Parey Scientific Publ.* Berlin. Germany. pp.. 16-35; 45-65; 123-133; 139-140; 146-151; 160-200.
- Blanco M y A Olachea (2000) Morfometría del delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*), en la costa norte central de Cuba. CD–ROM XVIII Congreso Panamericano de Ciencias del Mar.
- Bossart GD (2011) Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health.*Vet Pathology.* 48 (3).676-690.

- Bossart GD y LA Dierauf (1990) Marine mammal clinical laboratory medicine. En: Dierauf L.A. (Ed): CRC. Handbook of marine mammal medicine. Health, disease and rehabilitation. CRC Press:1-52.Bossart, 1984)
- Bossart GD, SJ Decker y RY Ewing (2001) Cytopathology of cutaneous viral papillomatosis in the killer whale (*Orcinus orca*).En. Pfeiffer C (Ed.), Molecular and Cell Biology of Marine Mammals, Krieger Publishing Co., Melbourne, FL, 213 – 223.
- Bossart GD, TA Brawner, C Cabal, M Kuhns, EA Eimstadt, J Caron, M Trimm y P Bradley (1990) Hepatitis B-like infection in a Pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 196: 127–130.
- Bossart GD, TH Reidarson, LA Dierauf y DA Duffield (2001) Clinical Pathology. En: Dierauf L.A. y F.M.D. Gulland (Eds.): CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. Segunda Edición. CRC Press. 383-436.
- Bossart KN, JA McEachern, AC Hickey, V Choudhry, DS Dimitrov, BT Eaton y LF Wang (2007). Neutralization assays for differential henipavirus serology using bio-plex protein array systems. *J Virol Methods.*;142(1–2):29–40.
- Brew SD, LL Perrett, JA Stack, AP MacMillan y NJ Staunton, (1999). Human exposure to *Brucella* recovered from a sea mammal. *Veterinary Record* 144, 483.
- Bricker BJ, DREwalt, APMacMillan, G Foster y S Brew (2000) Molecular characterization of *Brucella* strains from marine mammals. *Journal of Clinical Microbiology* 38(3)1258-1262.
- Buckland ST y AE York (2002). Abundance estimation. En. Perrin, Wursig y Thewissen (Eds.) *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press, San Diego. p 1-6.
- Buckland ST, DR Anderson, KP Burnham y JL Laake (1993) Distance Sampling: Estimating Abundance of Biological Populations, Chapman and Hall, London.
- Caldwell DK y MC Caldwell (1972).*Behavior of Marine Mammals*. En.SH Ridgway (Ed.) *Mammals of the sea*. Charles Thomas, Springfield, IL.234 p.
- Carter GR (1985). Bacteriología y Micología Veterinaria. Aspectos esenciales. Ed. Manual Moderno. S.A. México. pp.. 110-131; 171-195; 211-217; 310-315.

- Clavareau C, Wellemans V, Walravens K, Tryland M, Verger JM, Grayon M, Cloeckaert A, Letesson JJ, Godfroid J. (1998) Phenotypic and molecular characterization of a *Brucella* strain isolated from a minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) *Microbiology*. 144(12): 3267-73.
- Cloeckaert A, M Grayon, O Grépinet y KS Boumedine (2003) Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals by infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. *Microbes Infect* 5(7):593-602.
- Cockcroft VG y GJB Ross (1988) Age, growth and reproduction of bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from east coast of southern Africa. *Fisheries Bulletin* 88 (2). 289 – 302.
- Connor RC, RS Wells, J Mann, AJ Read (2000) The bottlenose dolphin. Social relationships in a fission–fusion society. In. *Cetacean Societies. Field Studies of Dolphins and Whales* (eds. Mann J, Connor RC, Tyack PL, Whitehead H), pp. 91–126. University of Chicago Press, Chicago.
- Cortez AM, H Pérez-Cao y V Lio (2000). Abundancia y distribución de delfines tonina (*Tursiops truncatus*) en el Archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba. Primera Aproximación. *CD – ROM MAR Cuba 2000*.
- Crossan C, PJ Baker, J Craft, Y Takeuchi, HR Dalton y L Scobie (2012) Hepatitis E virus genotype 3 in shellfish, United Kingdom. *Emerg Infect Dis* 18: 2085–2087
- Cruz D (2011). Caracterización clínica-etiotológica de lesiones orogenitales en delfines *Tursiops truncatus* en la cayería norte central de Cuba. Tesis doctoral no publicada. Universidad Agraria de La Habana, Centro Nacional Sanidad Agropecuaria, Acuario Nacional de Cuba, La Habana. Cruz, 2011)
- Cruz D y M Barrera (2011). Frecuencia de lesiones en genitales de delfines *Tursiops truncatus* de la cayería norte central de Cuba. *Rev. Salud Anim.*, 33(3), 1-7.
- Cruz D, M Rodríguez, V Kouri, Y Soto, L. Zamora, D Rodríguez y M Rehtanz (2013). Concurrent Papillomavirus- and Herpesvirus-Infection in Atlantic Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) inhabiting the Cuban Coast *Marine Mammals Science*.
- Curry BE, (1999) Stress in mammals: The potential influence of fishery-induced stress on dolphins in the eastern tropical Pacific Ocean, NOAA Technical Memorandum NMFS, NOAA-TM-NMFS-SWFSC-260, Southwest Fisheries Science Center, La Jolla, CA, 121 pp.

- Cutler SJ, Whatmore AM, Commander NJ (2005) Brucellosis--new aspects of an old disease. *J Appl Microbiol.* 98(6):1270-81.
- Dailey M y R Stroud (1978) Parasites and associated pathology observed in cetaceans stranded along the Oregon coast. *J Wildl Dis* 14: 503-511
- Daszak P, AA Cunningham y AD Hyatt (2001). Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. In: *Acta Tropica*. 78: 103-116.
- Defran RH y DW Weller. (1999). Occurrence, distribution, site fidelity, and school size of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) off San Diego, California. *Marine Mammal Science*, 15:366-380.
- Defran RH, D W Weller, DL Kelly y MA Espinosa (1999) Range characteristics of pacific coast bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the southern California bight. *Marine Mammal Sci.*15(2).381-393.
- Delgado A(1997) Relación de las toninas *Tursiops truncatus* y las toninas moteadas *Stenella frontalis* con la actividad camaronera en la Sonda de Campeche, México. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología* 68:317-338..
- Delgado A (2002) Comparación de parámetros poblaciones de las toninas, *Tursiops truncatus*, en la región sureste del Golfo de México (Estados de Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo). Tesis doctorado en ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM, México. Ciudad de México, México.
- Dierauf LA y FMD Gulland (2001).CRC Handbook of Marine Mammals Second Edition. pp.1063.
- Dong S, Y Wang, C Cassidy-Amstutz, G Lu, R Bigler, MR Jezyk, C Li, TM Hall y Z Wang (2011). Specific and modular binding code for cytosine recognition in Pumilio/FBF (PUF) RNA-binding domains. *J Biol Chem* 286(30):26732-42
- Dotzauer A, SM Feinstone y G Kaplan (1994). Susceptibility of nonprimate cell lines to hepatitis A virus infection. *Journal of Virology* 68, 6064-6068.
- Dunn JL, JD Buck y TR Robeck. (2001). Bacterial Diseases of Cetaceans and Pinnipeds. En: Dierauf LA y FMD Gulland (Eds) CRC Handbook of Marine Mammals Second Edition. 309-328.

- Eisenberg N. (1986). Altruistic emotion, cognition and behavior. Hillsdale: NJ: Erlbaum;300pp.
- Eisfeld SM (2003).The social affiliation and group composition of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the outer southern Moray Firth, NE Scotland. Thesis submitted for the degree of master of Science. School of Biological Sciences.University of Wales, Bangor.85 pp.
- Emerson E, C Kiernan y A Alborz (2001) The prevalence of challenging behaviors: a total population study. Research in Developmental Disabilities 22: 77–93.Epstein, 1995;
- Evans AR, GP Wilson, M Fortelius y J Jernvall (2007) High-level similarity of dentitions in carnivorans and rodents.Nature,445,78–81.
- Expósito Y, GL Raggi, R López y A Expósito (2007): Underwater encounter in the big blue. Sounding. 4: 11-14. Fair *et al.* 2006;
- Fair PA, JD Adams, E Zolman, SD McCulloch, JD Goldstein, ME Murdoch, R Varela, L Hansen, F Townsend, J Kucklick y C Bryan (2006) Protocols for conducting dolphin capture-release health assessment studies.
- Fair PA, M Houde, TC Hulse, GD Bossart, J Adams, L Balthis y DC Muir (2012). Assessment of perfluorinated compounds (PFCs) in plasma of bottlenose dolphins from two southeast US estuarine areas: relationship with age, sex and geographic locations. Marine pollution bulletin, 64(1), pp.66-74.
- Fernandez S y AA Hohn, (1998). Age, growth, and calving season of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, off coastal Texas. Fishery Bulletin, 96(2): 357-365.
- Foster G, KLJahans, RJ Reid yHM Ross (1996) Isolation of Brucella species from cetaceans, seals and an otter, *Vet. Rec.*, 138: 583–586.
- Gao S, D Li, Y Liu, E Zha, S Wang e Y Li (2016) Development and evaluation of a RT-LAMP assay for rapid detection of hepatitis E virus from shellfish. Int J Food Microbiol 220:1–5
- Gendron D (2000). Resultados preliminares sobre estimación de abundancia de Ballena Azul de Baja California. Resúmenes de la XXV Reunión InteARNcional para el Estudio de los Mamíferos Marinos. La Paz, B.C., México. 77 pp.
- Geraci JR y VJ Lounsbury (1993) Marine Mammals Ashore. A Field Guide for Strandings, Texas A&M Sea Grant Publications, Galveston, 305 pp.

- Godfroid J, A Cloeckaert, JP Liautard, S Kohler, D Fretin, K Walravens, B Bastuji y JJ Letesson, (2005) From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a reemerging zoonosis. *Veterinary Research* 36, 313-326
- Gol'din P y E Gladilina (2015). Small dolphins in a small sea: age, growth and life history aspects of the Black Sea common bottlenose dolphin *Tursiops truncatus*. *Aqua Biol.* 23:159-166
- Gotelli N.J. and Graves, G.R. (1996) *Null Models in Ecology*. Smithsonian Institution Press, Washington DC. *Open Journal of Ecology*, 4(11).
- Guevara C, R Campo y M Blanco (1997). Estudio Micológico y Bacteriológico en espiráculo en el delfín (*Tursiops truncatus*). *CD-ROM MAR Cuba 1997*
- Guevara C.; L Sánchez Campos, L Sánchez y V Lio (2003). Hallazgos patológicos en delfines tonina (*Tursiops truncatus*) procedentes del medio natural y de cautiverio. *CD – ROM MAR Cuba 2003*.
- Guzmán C, R Gonzalez, G Hernandez, JA Morales, E Baquero, E Chaves y E Moreno (2012) *Brucella ceti* and Brucellosis in Cetaceans. *frontiers in cellular in infection microbiology Front Cell Infect Microbiol.* 2:3.
- Hall AJ, RS Wells, JC Sweeney, FI Townsended, BC Balmer, AA Hohn y HL Rhinehart (2007) Annual, seasonal and individual variation in hematology and clinical blood chemistry profiles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, Florida. *Elsevier.* 148(2):266-277
- Hammond PS (1986) Estimating the size of naturally marked whale populations using capture-recapture techniques. *Reports of the International Whaling Commission. Special Issue*, 8, 253–282.
- Hansen HC, Kampen, AH y A Lund (2006) Hematologic values in calves during the first 6 months of life. *Vet. Clin. Pathol.* 35:182-187
- Harvell C., K. Kim, J. Burkholder, R. Colwell, P. Epstein, J. Grimes, E. Hofmann, E. Lipp, A. Osterhaus, R. Overstreet, J Porter, G. Smith y G. Vasta (1999). Emerging marine diseases: Climate links and anthropogenic factors. *Science.* 285:1505–1510

- Herman LM (2006) The question of dolphin intellect. En: Gaspard J., E. Putman y A. Kordowski (Eds) Proceedings of the 34th Annual Conference of the International Marine Animal Trainer's Association. M&G Graphics. Chicago, Illinois:12.Hersh, SL, DK Odell y ED Asper (1990). Sexual dimorphism in bottlenose dolphins from the east coast of Florida. *Marine Mammal Sci.* 6 (4). 305 – 315.
- Hersh SL y DA Duffield (1990). Distinction between northwest Atlantic offshore and coastal bottlenose dolphins based on hemoglobin profile and morphometry in The bottlenose dolphin, Academic Press, San Diego, pp.129-139
- Higgins R. (2000). Bacterial and fungi of marine mammals, *Can. Vet. J.*, 41, pp.105-116.
- Hoelzel AR (1998). Genetic structure of cetacean populations in sympatry, parapatry and mixed assemblages: implications for conservation policy. *J. Hered.* 89: 451–458.
- Hohn AA (1997). Design for a Multiple-Method Approach to Determine Stock Structure of Bottlenose dolphins in the Mid-Atlantic. *NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-401.*
- Hohn AA, Scott MD, Wells RS, Sweeney JC y AB Irvine (1989). Growth layers in teeth from known-age, free-ranging bottlenose dolphins. *Mar Mammal Sci* 5:315-342
- Hohn AA. (1980) Age determination and age related factors in the teeth of Western North Atlantic bottlenose dolphins. *Scientific Reports of the Whales Research Institute* 32:39-66.
- Hu WP, Y Lu, NA Precioso y HY Chen (2008) Double-antigen enzyme-linked immunosorbent assay for detection of hepatitis E virus-specific antibodies in human or swine sera. *Clin Vaccine Immunol* 15: 1151–1157.
- Jedensjö M., CM Kemper y M Krützen (2017) Cranial morphology and taxonomic resolution of some dolphin taxa (Delphinidae) in Australian waters, with a focus on the genus *Tursiops*. *Mar Mam Sci*, 33: 187–205. doi:10.1111/mms.12356.
- Jothikumar N, TL Cromeans, BH Robertson, XJ Meng y VR Hill (2006) A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J Virol Methods* 131: 65–71
- Lacave G. (1993). Proceedings of the third marine mammals health care workshop. Diagnostic and therapeutic methods in marine mammals. Lacave G (Ed.) Zoo Duisburg, Germany. 298-309.

Laird AK(1966). Postnatal growth of birds and mammals. *Growth*.30(3):349-63.

Lockyer C (1993) A report on patterns of deposition of dentine and cement in teeth of pilot whales, genus *Globicephala*. *Rep.int. Whal. Commn* (14).137-161.

Lockyer C (2006). Age – How is it determined and validated in marine mammals? Proceedings of VI European Seminar on Marine Mammals. Biology and Conservation. 8 pp.

López N (2007). Estructura y dinámica poblacional de los delfines *Tursiops truncatus* (Cetacea: Odontoceti) en la costa norte de la provincia de Matanzas, Cuba. Tesis presentada en opción al título académico de Master en Biología Marina y Acuicultura con Mención en Biología Marina. Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de La Habana, Cuba. 72 p.

López N, G Fernández, C Guevara, L Sánchez, L Sánchez Campos, D Cruz y E García (2014) Parámetros poblacionales y clínicos de delfines *Tursiops truncatus* que habitan en la costa norte central del archipiélago Sabana-Camagüey, Cuba. Informe Final del Proyecto. DB-1115. Acuario Nacional Cuba.

López N, R López y M Blanco (2012). Distribución, abundancia y composición etaria de los grupos de *Tursiops truncatus* (Cetacea. Delphinidae) en la costa norte de la provincia de Matanzas, Cuba. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*. 2 (3), 39-47.

López N, R López, C Guevara, L Sánchez Campos, L Sánchez, D Cruz y E García (2012): "Estructura poblacional y evaluación clínica del delfín tonina (*Tursiops truncatus*) en el archipiélago Sabana-Camagüey. Informe Final del Proyecto. DB-014. Acuario Nacional Cuba.

López R (2007): Encadenamiento aleatorio de conductas en el entrenamiento de delfines *Tursiops truncatus* (Cetacea: Odontoceti). Tesis en opción al grado científico de Master en Fisiología Animal. Facultad de Biología. Universidad de la Habana. 68pp.

Mac Faddin J (1980). Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. Ed. Panamericana. México. pp.. 39-61; 94-112; 134-168; 183-190.

Manly BF (2007). Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology. 3ª Ed. Chapman & Hall. Boca Raton.

- Manzanilla SR (1989) The 1982-1983 El Niño event recorded in dentinal growth layers in teeth of Peruvian dusky dolphins (*Lagenorhynchus obscurus*). *Can.J.Zool.* 67:2120-2125.
- Martínez MC (1998) Ballet Acuático con Delfines. Second Choice Awards. Proceedings of the 26th Annual Conference of the International Marine Animal Trainer's Association. M&G Graphics. Chicago, Illinois:4.
- Maze KS y B Würsig, (1999): Bottlenose dolphins of San Luis Pass, Texas: Occurrence patterns, site fidelity, and habitat use. *Aquatic Mammals*25(2): 91-103.
- McCormick, JG, EG Wever, y J Palin(1970). Sound conduction in the dolphin ear. *J. Acoust. Soc. Am.* 48, 1418-1428.
- McFee WE, JH Schwacke, MK Stolen, KD Mullin, LH Schwacke(2010) Investigation of growth phases for bottlenosedolphins using a Bayesian modeling approach. *Mar Mamm Sci* 26:67–8
- Mead JG y CW Potter (1990) Natural history of bottlenose dolphins along the central Atlantic coast of the United States.En:Leatherwood S y RR Reeves (Eds.)The Bottlenose Dolphin.Academic Press, San Diego, CA:165 – 195.
- MillerLD, RYEwing y G Bossart (2001) Emerging and Resurging Diseases in Handbook of Marine Mammal Medicine. CRC Press, INC.
- Molina D y JC Reyes (1996). Determinación de la edad en el delfín chileno *Cephalorynchus eutropias* (Cetacea.Delphinidae) Revista Chilena de Historia Animal 69.183-191.
- Montalvo MC, JC Owot, B Correia y MB Corredor (2013) Hepatitis E virus genotype 3 in humans and swine, Cuba. *Infect Genet Evol* 14: 335–339.
- Montalvo MC, LA Rodriguez, V Chandra y MB Corredor (2008) Hepatitis E virus genotype 1, Cuba. *Emerg Infect Dis* 14: 1320–1322
- Morhi M, R Torii, K Nagaya, K Shiraki, R Elsner, H Takeuchi, YS Park y SK Hong (1995): Diving Patterns of Ama Divers of Hegura Island, Japan. *Undersea and Hyperbaric Medicine.* 22: 137-143.
- Morteo E, G Heckel, RH Defran e Y Schramm (2004). Distribución. Movimientos y tamaño del grupo del tursión (*Tursiops truncatus*) al sur de bahía de San Quintín, Baja California, México. *Ciencias Marinas* 30(1A). 35-46.

Mullin KD, RR Lohoefer, W Hoggard, CL Roden y CM Rogers (1990) Abundance of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in the coastal Gulf of Mexico. *Northeast Gulf Science* 11(2).113-122.

Neuenhoff RD, DF Cowan, H Whitehead and CD Marshall. (2011) Prenatal data impacts common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) growth parameters estimated by length-at-age curve. *Marine Mammal Science* 27:195–216.

Norris KS y JH Prescott (1961) Observations on Pacific cetaceans of Californian and Mexican waters. *Univ. California Publ. Zool.*, 63:291-402.

Nymo IH, M Tryland y J Godfroid. (2011) A review of *Brucella* infection in marine mammals, with special emphasis on *Brucella pinnipedialis* in the hooded seal (*Cystophora cristata*)

Ortega JG (1996). Distribución y abundancia de las toninas *Tursiops truncatus* en la Bahía de Ascención, Quintana Roo, México. Tesis de Maestría, CCH, UNAM, México. 82 pp.

Ortega JG (2000). Estimación de abundancia en delfines mediante la fotoidentificación. Capítulo XV. Pp. 337-351. En. Granado, A., V. Solís, R. G. BeARNI (Eds.). Muestreo en Mamíferos Marinos. Postgrado en Ciencias del mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Parsons ECM y TA Jefferson (2000) Post-mortem investigations of stranded dolphins and porpoises from Hong Kong waters, *J. Wildl. Dis.*, 36:342-356.

Pérez M, A Álvarez y D Cruz (2006): Entrenamiento para la toma voluntaria de muestras de piel de un ejemplar de lobo marino de un pelo (*Otaria flavescens*) Libro resumen del VI Congreso de Ciencias del Mar MARCUBA 2006: 85.

Pérez-Cao H (1996) *Genética bioquímica poblacional del delfín tonina Tursiops truncatus (Montagu, 1821) de Cuba*. Tesis de Diploma. Universidad de la Habana. 64 p.

Pérez-Cao H (2004) *Abundancia y distribución de la tonina Tursiops truncatus (Montagu, 1821) en dos áreas del archipiélago de Sabana-Camaguey, Cuba*. Tesis presentada en opción al título académico de Master en Biología Marina y Acuicultura con Mención en Biología Marina. Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de La Habana, Cuba. 86 p.

- Pérez-Cao H, N López, M Blanco y G González (2009). Abundancia y distribución del delfín tonina (*Tursiops truncatus* Montagu, 1821) en la costa norte de la provincia de Matanzas, Cuba. *Rev. Invest. Mar.* 30(1):55-61
- Pérez-Cao H, N López; V Lio; M Blanco y V Isla (2003). Distribución de delfines tonina *Tursiops truncatus* en la costa norte de Matanzas. *CD – ROM MAR´Cuba 2003*.
- Pérez-Gracia MT, B Suay y ML Mateos-Lindemann (2014) Hepatitis E: an emerging disease. *Infect Genet Evol* 22:40–59
- Perrin WF y Jr.AC Myrick (1980). Age determination of toothed whales and sirenians. *Rep. int. Whal. Commn* (3). 229pp.
- Pizzorno JLA, JJr Lailson-Brito, SM Simão e IMG Gurgel (1998) Preliminary population estimates of *Sotalia fluviatilis* in the Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. The World Marine Mammal Science Conference. Abstracts. Monaco, 20-24 January 1998. The Society for Marine Mammalogy. 160 pp.
- Pogue C y T Maiden, (2014). Baseline hematology in *Tursiops truncatus* (Atlantic bottlenose dolphins), Roatan, Honduras (*The FASEB Journal*. 28(1):11-16.
- Read AJ, RS Wells, AA Hohn y MD Scott (1993) Patterns of growth in wild bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *JouARNI of Zoology London (A)* 231. 107 – 123.
- Rehtanz M, SJ Ghim, A Rector, M Van Ranst, AB Jenson y GD Bossart (2005) Isolation of a novel papillomavirus (pv) from a genital lesion of a bottlenose dolphin: *Tursiops truncatus* papillomavirus type 2. Proceedings of the Florida Marine Mammal Health Conference II April 7-10. University of Florida.
- Resendes AR, C Juan-Salles, S Almeria, M Majo, M Domingo y JP Dubey (2002) Hepatic sarcocystis in a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Spanish Mediterranean coast. *J Parasitol* 88: 206–209
- Reynolds JE, RS Wells y SDEide (2000) The bottlenose dolphin. University Press of Florida. Gainesville. FL. 288 pp.
- Rhinehart HL, RS Wells, FI Townsend, JC Sweeney y DR Casper (1992). Blood profiles of free-ranging bottlenose dolphins from the central west coast of Florida: 1991-92.

Contract Report to National Marine Fisheries Service, Southeast Fisheries Center.
Contract No. 50-WCNF-706083. 7 pp.

Ricklefs RE (1969). Invitación a la ecología. La economía de la naturaleza.(4º ed). Editorial

Ridgway RH, JS Geracy y W. Medway (1975): Diseases of pinnipeds. *Rapp P Eun Cons Int ExplorMar*
169:327-337.

Rojas BL, A Díaz, O Ramírez, A Jaramillo y H Pérez C., (2000).Primeros pasos para un
plan de recuperación de la vaquita. El segundo reporte del Comité InteARNcional para la
Recuperación de la Vaquita (CIRVA). Resúmenes de la XXV Reunión InteARNcional para
el Estudio de los Mamíferos Marinos. La Paz, B.C., México. 77 pp.

Romero A y A Delgado (2015) Comparación del ritmo de crecimiento de las toninas (*Tursiops
truncatus*) pertenecientes a tres localidades distintas *Therya*, 6 (2): 389-400

Rowe LE y SM Dawson (2009). Determining the sex of bottlenose dolphins from Doubtful
Sound using dorsal fin photographs. *Marine Mammal Science*, 25(1), 19-34.

Sánchez L, G Fernández, R. López, C Guevara, L Sánchez Campos, D Cruz (2014) Lesiones
cutáneas similares observadas en tresdelfines *Tursiops truncatus* mantenidos en el
Acuario Nacional de Cuba: Estudio de casos. *RedVet*.16 (10):3-12.

Sánchez Campos, L., Cárdenas Morcoso D., Valero, L., T. Blanco, Y., Lima Cazorla, L., Fernández
G., Sánchez Martínez L., López N., Cruz D., y Guevara C. (2015). Niveles de metales
pesados en sangre de delfines (*Tursiops truncatus*) procedentes de la costa norte central
de Cuba. *Rev. CubaZoo*. No 27-2015. Página: 56-58.

Sbriglio JL y HS Sbriglio (2007) Brucelosis: Una patología generalmente sub diagnosticada
en Humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de
nuestros países. *Bioanálisis* 3 (13):8-10

Schaefer AM, HCW Stavros, GD Bossart, PA Fair, JD Goldstein y JS Reif (2011)
Associations between mercury and hepatic, renal, endocrine, and hematological
parameters in Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) along the eastern coast of
Florida and South Carolina. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 61(4):
688-695.

- Schwacke LH, Hall AJ, Townsend FI, Wells RS (2009) Hematologic and serum biochemical reference intervals for free-ranging common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) and variation in the distributions of clinicopathologic values related to geographic sampling site. *Am J Vet Res* 70:973–985
- Schwarz G (1978). Estimating the dimension of a model. *The Annals of Statistics*.6:461-464.
- Scott GP (1990) Management-oriented research on bottlenose dolphins by the Southeast Fisheries Center. En: Leatherwood S y RR Reeves (Eds.). *The Bottlenose Dolphins* (Eds.) Academic Press, San Diego, CA.: 632—39
- Scott MD, RS Wells y AB Irvine (1990). A long-term study of bottlenose dolphins on the west coast of Florida. En: Leatherwood S y RR Reeves (Eds.). *The Bottlenose Dolphins* (Eds.) Academic Press, San Diego, CA. 235-244.
- Sellas AB, RS Wells y PE Rosel (2005). Mitochondrial and nuclear DNA analyses reveal fine scale geographic structure in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Gulf of Mexico. *Conserv Genet* 6(5):715-728.
- Sergeant DE(1973). Biology of white whales (*Delphinapterus leucas*) in Western Hudson Bay. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 30(8): 1065-1090
- Shane SH (1980). Occurrence, movements and distribution of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, in southern Texas. *Fisheries Bulletin* 78. 593 – 601.
- Shane SH (1990). Behavior and Ecology of the Bottlenose Dolphin at Sanibel Island, Florida. En: Leatherwood S y RR Reeves (Eds.). *The Bottlenose Dolphin*. Academic Press, USA. 245-265.
- Smith DB, P Simmonds, S Jameel y SU Emerson (2014) Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J Gen Virol* 95: 2223–2232
- Smith JF (2002). Marine mammals. In, *FAO species identification guide for fishery purposes*. Vol. 3. Bony fishes part 2 (Opisthognathidae to Molidae), sea turtles and marine mammals. Ed. Carpenter, K. E. Rome. 2031 pp.
- Sonnenwirth A y L Jarret (1983). *Métodos y Diagnostico del Laboratorio Clínico*. Ed. Científico Técnico. Cuba. pp.. 1433-1499; 1500-1534; 1559-1593; 2024-2031

- Stavros HCW, GD Bossart, TC Hulse y PA Fair (2008). Trace element concentrations in blood of free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): influence of age, sex and location. *Marine Pollution Bulletin*, 56(2):371-379.
- Stolen ED, RB Smith, DR Breininger (2002) Analysis of wading bird use of impounded wetland habitat of the Kennedy Space Center. *NASA Technical Memo*. 211173
- Takahashi H, T Tanaka, S Jirintai y S Nagashima (2012) A549 and PLC/PRF/5 cells can support the efficient propagation of swine and wild boar hepatitis E virus (HEV) strains: demonstration of HEV infectivity of porcine liver sold as food. *Arch Virol* 157: 235–246
- Tamura K, G Stecher, D Patersson, A Filipski y S Kumar (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30: 2725–2729.
- Teylo D (1996). Aislamiento e identificación de bacterias patógenas de los peces. 273-278.
- Thomas L, JL Laake, JF Derry, ST Buckland, DL Borchers, DR Anderson, KP Burnham, S Strindberg, SL Hedley, FFC Marques, JH Pollard y RM Fewster. (1998) Distance 3.5. Research Unit for Wildlife Population Assessment, University of St. Andrews, St. Andrews, UK.
- Thompson DBA, SD Gillings, CA Galbraith, SM Redpath y J Drewitt (1997) The contribution of gamemanagement to biodiversity: a review of the importance of grouse moors for upland birds. In: Fleming V, AC Newton, JA Vickery y MB Usher (Eds) *Biodiversity in Scotland: Status, Trends and Initiatives*. Stationery Office, Edinburgh: 198–212.
- Tryland M (2000). Zoonoses of Arctic Marine Mammals. *Infect. Dis. Rev.* 2:55-64.
- Van Waerebeek K y WF Perrin (2007) Conservation status of the Atlantic humpback dolphin, a compromised future? CMS/ScC14/Doc.6, 14th Meeting of the CMS Scientific Council, Bonn, Germany, 14-17
- Varona LS (1974) Catálogo de los mamíferos vivos y extinguidos de Las Antillas. Academia de Ciencias de Cuba, La Habana, 139pp
- Wade PR (2002). Population dynamics. En: Perrin, WF, B Würsig, y JGM Thewissen (Eds.) *Encyclopedia of marine mammals*. Academic press. San Diego, EE. UU. 974-979
- Wade PR y T Gerrodete (1993) Estimates of cetacean abundance and distribution in the eastern tropical Pacific. *Rep. Int. Whal. Commn.* 43. p. 477-492.

- Wang J (2001). A pseudo-likelihood method for estimating effective population size from temporally spaced samples. *Genet Res Camb* 78: 243–257.
- Weigle B (1990) Abundance, distribution and movements of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Lower Tampa Bay, Florida. Reports of the International Whaling Commission (Special Issue 12), pp. 195-201.
- Wells RS (1986) Structural aspects of dolphin society. PhD. Dissertation. Univ. California. Sta Cruz. 234 pp
- Wells RS (1991). The role of long-term study in understanding the social structure of a bottlenose dolphin community. En: K. Prior y S. N. Kenneth (Eds.). *Dolphin societies. Discoveries and Puzzles*. University of California Press, Berkeley, CA. pp. 199-225.
- Wells RS y MD Scott (1999). Bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). En: *Handbook of Marine Mammals*, Vol. 6. Academic Press. San Diego CA.
- Wells RS y MD Scott (2002). Bottlenose dolphins. En: WF. Perrin, B Wursig y JGM. The wissen (Eds.). *Encyclopedia of Marine Mammals*. pp. 122-127.
- Wells RS, HL Rhinehart, LJ Hansen y JC Sweeney (2004) Bottlenose dolphins as marine ecosystem sentinels: developing a health monitoring system. *EcoHealth* 1:246–254
- Wells RS, MK Bassos, KW Urian, WJ Carr y MD Scott (1996) Low level Monitoring of Bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* in Charlotte Harbor, Florida 1990-1994. NOAA Technical Memo. NMFS-SEFSC-384. 36pp
- Ziane-Cherif N (1995). *Recopilación de testimonios sobre avistamientos de toninas Tursiops truncatus (Montagu, 1821) en el archipiélago de Sabana - Camagüey*. Memorias de la JoARNda Científica 35 Aniversario. 21-22 de diciembre. Acuario Nacional de Cuba. 15.
- Ziesenis A, T Bernard, M Petermann, B Franz y W Leibold (2000) Monoclonal antibodies preventing the development of polyarthritis in rats induced by experimental infection with erysipelas bacterial, *Scand. J. Rheumatol.*, 21: 60-67.

EJECUCIÓN DEL PRESUPUESTO DE GASTOS

Entidad: Acuario Nacional de Cuba		Año 2015			Año 2016			Año 2017		
Actividad	Entidad Gestora	Plan	Real	% Real/Plan	Plan	Real	% Real/Plan	Plan	Real	% Real/Plan
		Cantidad	Importe		Cantidad	Importe		Cantidad	Importe	
Caracterización de las poblaciones de <i>Tursiops truncatus</i> (Cetacea: Delphinidae) en la costa norte central de Cuba	ANC	196.1	107.2	55	291.4	137.5	47	114.9	75.43	65

MATERIALES DIDÁCTICOS DIVULGATIVOS QUE FORTALEZCAN EL PROGRAMA EDUCATIVO DEL ANC

- Se contribuyó con información e imágenes de video a la televisión cubana
- Se mantuvo la frecuencia del curso "Mamíferos Marinos" del círculo de interés "Conozcamos el mar".
- Se impartió nuevamente la conferencia de cambio climático y delfines en la facultad de biología, Universidad de la Habana en el 2016.
- Como parte de la universidad del adulto mayor en la asignatura "Nociones de Medio Ambiente", el tema de la protección y conservación de mamíferos marinos fue uno de los más abordados, donde se incluyó un panorama general de las investigaciones en delfines que realiza el Acuario Nacional.
- Revisión y reimpresión del libro divulgativo para niños "Los Delfines", de la serie impresa "Conozcamos el mar".

APORTE ALCANZADO**ARTÍCULOS CIENTÍFICO TÉCNICOS PRODUCIDOS CON LOS RESULTADOS DEL PROYECTO**

- Sánchez L, G Fernández, R. López, C Guevara, L Sánchez Campos, D Cruz (2014) Lesiones cutáneas similares observadas en tres delfines *Tursiops truncatus* mantenidos en el Acuario Nacional de Cuba: Estudio de casos. RedVet.16 (10):3-12.
- Cush, C. 2016. GoMDIS bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) sightings. Data downloaded from OBIS-SEAMAP (<http://seamap.env.duke.edu/dataset/863>).
- Montalvo-Villalba MC, D Cruz, I. Ahmad, LA Rodríguez, M. Bello, C Guevara, L Sánchez Martínez, L Sánchez Campos, Sh Jameel (2017): Hepatitis E virus in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus*. Dis Aquat Org.123:13-18.
- Guevara C., R. López, L Sánchez Martínez, L Sánchez Campos, G Fernández, D Cruz, (en prensa). Rangos de valores hematológicos y hemoquímicos de delfines *Tursiops truncatus*(Cetartiodactila: Cetacea) para aguas cubanas.
- Fernández G, R. López, C Guevara, L Sánchez Martínez, L Sánchez Campos, D Cruz, (en prensa). Modelos de crecimiento de delfines *Tursiops truncatus* en el Archipiélago Sabana-Camaguey.

TRABAJOS PRESENTADOS EN EVENTOS CIENTÍFICOS

- López N, G Fernández, C. Guevara, L Sánchez Martínez, L Sánchez Campos, R. López, D Cruz (2017): Reporte de lesiones cutáneas a través de la fotoidentificación en delfines *Tursiops truncatus* en la costa norte de Matanzas. XXIV Congreso Internacional de la Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios ALPZA. La Habana.
- Sánchez L, G Fernández, C. Guevara, L Sánchez Campos, R. López, D Cruz (2017): Lesiones cutáneas en tres delfines *Tursiops truncatus* mantenidos en el Acuario Nacional de Cuba. Estudio de Caso. XXIV Congreso Internacional de la Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios ALPZA. La Habana.
- Guevara C., R. López, L Sánchez Martínez, L Sánchez Campos, G Fernández (2017) Rangos de valores hematológicos y hemoquímicos de delfines *Tursiops truncatus* para aguas cubanas. XXIV Congreso Internacional de la Asociación Latinoamericana de Parques Zoológicos y Acuarios ALPZA. La Habana.

IMPACTO PREVISTO Y ALCANZADO

IMPACTO CIENTÍFICO PREVISTO

El desarrollo del proyecto permitirá la continuidad de las investigaciones comenzadas en proyectos anteriores sobre la especie de *Tursiops truncatus* provenientes del archipiélago Sabana-Camagüey, de donde se han realizado extracciones sostenidas de las poblaciones naturales. Los resultados brindarán de forma general información actualizada en cuanto a la estructura poblacional de la especie a nivel ecológico, específicamente sobre la distribución, abundancia y características grupales de la especie en aguas de Varadero. La base de datos clínicos en el área de captura se enriquecerá con el aporte de nueva información que permitirá dar conclusiones más certera que en proyectos anteriores, en lo anterior se tomará muestras de espiráculos para caracterizarlos microbiológicamente, y se realizará el análisis serológicos de enfermedades que puedan ser posibles factores de riesgos para la salud de los delfines por primera vez en Cuba. Por otra parte, esta especie, al ser considerada un indicador de la salud de los ecosistemas donde habitan, permitirá realizar valoraciones de las condiciones actuales de los mismos. De forma general, las metodologías y experiencias adquiridas durante esta investigación serán factibles de aplicar por las diferentes unidades de medio ambiente del país, a partir del perfeccionamiento del plan de monitoreo del delfín tonina en nuestras costas, que fue establecido a partir de los resultados del proyecto anterior.

IMPACTO CIENTÍFICO ALCANZADO

Esta investigación constituyó la continuación de los estudios que sobre *Tursiops truncatus* se realizan en el país, especie de vital importancia si se tiene en cuenta el uso que se hacen de sus poblaciones, específicamente la extracción de individuos del medio natural. El comportamiento de la densidad y características grupales para la especie en Varadero y la estructura etaria de la zona central del archipiélago, están dentro de los resultados importantes. Por su parte la actualización del catálogo de aletas de delfines, con la incorporación de nuevos individuos que se suman a la población residente en la zona, es el sistema de monitoreo más efectivo en el tiempo. Se reportó por primera vez la presencia la afección por el Virus de la Hepatitis E en la especie y se reportó que puede provocar la muerte en casos extremos. Asimismo se reportaron los valores hematológicos y serológicos normales para los delfines de aguas cubanas basados en métodos más complejos

estadísticamente. Se actualizó la base de datos creada en el proyecto anterior sobre la prevalencia de las principales patologías que afectan a los delfines en el medio natural teniendo una perspectiva en el tiempo. Durante el proyecto se presentó una tesis de maestría.

IMPACTO ECONÓMICO PREVISTO

Los resultados de este proyecto tienen un impacto económico indirecto, sus poblaciones naturales están siendo explotadas por la extracción de individuos para la exhibición en delfinarios y como recurso marino exportable altamente cotizado del país. En conjunto los resultados del proyecto permitirán encaminarnos al desarrollo del uso sostenible de la especie.

IMPACTO ECONÓMICO ALCANZADO

Los resultados del proyecto en su conjunto enriquecen el conocimiento que sobre la especie se tiene en el país, son el basamento imprescindible para continuar con el uso de la especie como recurso manejable. Se conoce además que como depredadores tope, los cetáceos son indicadores de los ecosistemas, por lo que de la estabilidad de sus poblaciones dependerán también renglones económicos importantes para el país como el pesquero.

IMPACTO SOCIAL PREVISTO

Los materiales científico-divulgativos que se obtendrán en este estudio contribuirán enormemente con el Programa Educativo Nacional que desarrolla el Acuario Nacional de Cuba en la divulgación del conocimiento y la protección de la biodiversidad marina.

IMPACTO SOCIAL ALCANZADO

Los resultados del proyecto han pasado a formar parte de conferencias divulgativas a diferentes niveles, universitarios (Facultad de Biología, Universidad de La Habana) y Universidad del Adulto mayor, y en el círculo de interés "Conozcamos el mar"

VÍNCULO CON INSTITUCIONES EXTRANJERAS O INTERNACIONALES LOGRADO

Desde el año 2016 se realizan investigaciones conjuntas con el Laboratorio de Ecología de Mamíferos de la Universidad de do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, Brasil, que incluye el procesamiento de muestras de dientes y en un futuro el análisis genético de la especie.

Anexos

Descriptivos generales de los parámetros sanguíneos normales (188 individuos; n: número total de análisis).

Variable	Estadístico	Machos	Hembras	Total
Hb (g/dl)	Media ± ES	15,4483 ± 0,1077	15,2034 ± 0,0689	15,2778 ± 0,0582
	IC 95%	(15,236 - 15,661)	(15,068 - 15,339)	(15,164 - 15,392)
	n	177	406	583
	Min - Max	(11,3 - 19,9)	(11,3 - 19,7)	(11,3 - 19,9)
Ht (%)	Media ± ES	0,4703 ± 0,004	0,4594 ± 0,0026	0,4628 ± 0,0022
	IC 95%	(0,462 - 0,478)	(0,454 - 0,465)	(0,458 - 0,467)
	n	163	370	533
	Min - Max	(0,31 - 0,6)	(0,33 - 0,61)	(0,31 - 0,61)
RWC (x10 ¹² /L)	Media ± ES	3,7995 ± 0,0559	3,5906 ± 0,029	3,6417 ± 0,0263
	IC 95%	(3,688 - 3,911)	(3,534 - 3,648)	(3,59 - 3,694)
	n	65	201	266
	Min - Max	(2,8 - 4,9)	(2,6 - 4,8)	(2,6 - 4,9)
Leuco (x10 ⁹ /L)	Media ± ES	8,5719 ± 0,1809	7,3733 ± 0,1201	7,7402 ± 0,1026
	IC 95%	(8,215 - 8,929)	(7,137 - 7,609)	(7,539 - 7,942)
	n	176	399	575
	Min - Max	(3,9 - 17,1)	(2,9 - 15,5)	(2,9 - 17,1)
Neut (%)	Media ± ES	0,5917 ± 0,0101	0,5644 ± 0,0062	0,5728 ± 0,0053
	IC 95%	(0,572 - 0,612)	(0,552 - 0,577)	(0,562 - 0,583)
	n	167	375	542
	Min - Max	(0,17 - 0,85)	(0,12 - 0,85)	(0,12 - 0,85)
Banda (%)	Media ± ES	0,0327 ± 0,0033	0,0326 ± 0,0038	0,0327 ± 0,003
	IC 95%	(0,025 - 0,04)	(0,025 - 0,04)	(0,027 - 0,039)
	n	11	34	45
	Min - Max	(0,01 - 0,05)	(0,01 - 0,09)	(0,01 - 0,09)
Linf (%)	Media ± ES	0,272 ± 0,0084	0,3043 ± 0,0057	0,2943 ± 0,0048
	IC 95%	(0,256 - 0,289)	(0,293 - 0,316)	(0,285 - 0,304)
	n	167	373	540
	Min - Max	(0,08 - 0,65)	(0,05 - 0,74)	(0,05 - 0,74)
Eos (%)	Media ± ES	0,1229 ± 0,0068	0,115 ± 0,0037	0,1174 ± 0,0033
	IC 95%	(0,109 - 0,136)	(0,108 - 0,122)	(0,111 - 0,124)
	n	155	355	510
	Min - Max	(0,01 - 0,35)	(0,01 - 0,38)	(0,01 - 0,38)
Mon (%)	Media ± ES	0,0291 ± 0,0025	0,0256 ± 0,0014	0,0266 ± 0,0012
	IC 95%	(0,024 - 0,034)	(0,023 - 0,028)	(0,024 - 0,029)
	n	75	187	262
	Min - Max	(0,01 - 0,1)	(0,01 - 0,1)	(0,01 - 0,1)
Bas (%)	Media ± ES	0,0005 ± 0,0003	0,0002 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001
	IC 95%	(0 - 0,001)	(0 - 0)	(0 - 0,001)
	n	167	376	543

	Min - Max	(0 - 0,03)	(0 - 0,02)	(0 - 0,03)
Fe (mg/dl)	Media ± ES	144,58 ± 10,7612	195,7455 ± 11,0435	179,7563 ± 8,935
	IC 95%	(121,499 - 167,661)	(173,251 - 218,24)	(161,781 - 197,731)
	n	15	33	48
	Min - Max	(84 - 245,1)	(88 - 308)	(84 - 308)
Fibrin. (mg/dl)	Media ± ES	335,1667 ± 27,372	299,7333 ± 27,1857	309,8571 ± 20,8772
	IC 95%	(264,805 - 405,529)	(241,426 - 358,041)	(266,308 - 353,406)
	n	6	15	21
	Min - Max	(272 - 450)	(161 - 500)	(161 - 500)
Glic (mg/dl)	Media ± ES	111,8046 ± 2,5873	110,1379 ± 1,2882	110,6313 ± 1,1862
	IC 95%	(106,697 - 116,912)	(107,606 - 112,67)	(108,302 - 112,961)
	n	172	409	581
	Min - Max	(6,32 - 183)	(19,27 - 192)	(6,32 - 192)
Triglic (mg/dl)	Media ± ES	108,4502 ± 2,513	104,3646 ± 1,7565	105,6308 ± 1,4421
	IC 95%	(103,477 - 113,423)	(100,907 - 107,822)	(102,796 - 108,466)
	n	128	285	413
	Min - Max	(70 - 185)	(70 - 194)	(70 - 194)
Coolest (mg/dl)	Media ± ES	184,3107 ± 3,3505	184,5802 ± 2,3338	184,502 ± 1,919
	IC 95%	(177,689 - 190,932)	(179,991 - 189,17)	(180,732 - 188,272)
	n	148	362	510
	Min - Max	(95,2 - 310)	(91,26 - 332)	(91,26 - 332)
Amyl (UI/l)	Media ± ES	32,3333 ± 11,6667	16,2857 ± 1,8736	19,1176 ± 2,7731
	IC 95%	(-17,864 - 82,531)	(12,238 - 20,333)	(13,239 - 24,996)
	n	3	14	17
	Min - Max	(14 - 54)	(14 - 40)	(14 - 54)
HDLP (mg/dl)	Media ± ES	88,0286 ± 3,8407	88,2583 ± 2,0391	88,2065 ± 1,7704
	IC 95%	(78,631 - 97,426)	(84,04 - 92,477)	(84,591 - 91,822)
	n	7	24	31
	Min - Max	(73,3 - 100)	(61,5 - 100)	(61,5 - 100)
Creat (mg/dl)	Media ± ES	1,1651 ± 0,028	1,2554 ± 0,0169	1,2272 ± 0,0146
	IC 95%	(1,11 - 1,22)	(1,222 - 1,289)	(1,198 - 1,256)
	n	172	378	550
	Min - Max	(0,4 - 2,3)	(0,4 - 2,2)	(0,4 - 2,3)
Urea (mg/dl)	Media ± ES	92,4563 ± 4,3167	93,9593 ± 2,5338	93,4853 ± 2,2021
	IC 95%	(83,907 - 101,006)	(88,969 - 98,949)	(89,155 - 97,816)
	n	117	254	371
	Min - Max	(9,24 - 199)	(9,24 - 200)	(9,24 - 200)
Ac.Uric (mg/dl)	Media ± ES	2,5117 ± 0,4102	1,8419 ± 0,2012	2,0987 ± 0,2027
	IC 95%	(1,661 - 3,363)	(1,434 - 2,25)	(1,693 - 2,504)
	n	23	37	60
	Min - Max	(0,3 - 6,7)	(0,37 - 5,4)	(0,3 - 6,7)
P.T (g/dl)	Media ± ES	7,1406 ± 0,0877	7,2402 ± 0,05	7,2116 ± 0,0436
	IC 95%	(6,967 - 7,314)	(7,142 - 7,339)	(7,126 - 7,297)
	n	133	330	463
	Min - Max	(4,7 - 10,2)	(5 - 10,1)	(4,7 - 10,2)
ALAT (UI/l)	Media ± ES	34,0342 ± 1,0941	38,1321 ± 0,7608	36,9405 ± 0,6304
	IC 95%	(31,875 - 36,193)	(36,637 - 39,627)	(35,703 - 38,178)

	n	180	439	619
	Min - Max	(8,2 - 93,3)	(7 - 101)	(7 - 101)
ASAT (UI/l)	Media ± ES	266,7054 ± 11,0878	300,9161 ± 7,154	290,6281 ± 6,0435
	IC 95%	(244,813 - 288,598)	(286,85 - 314,982)	(278,757 - 302,499)
	n	166	386	552
	Min - Max	(30 - 680)	(16 - 728)	(16 - 728)
GGT (UI/l)	Media ± ES	20,8081 ± 0,7757	21,8911 ± 0,4369	21,5771 ± 0,3834
	IC 95%	(19,275 - 22,341)	(21,032 - 22,75)	(20,824 - 22,33)
	n	149	365	514
	Min - Max	(5,35 - 56)	(5 - 53)	(5 - 56)
Bill (mg/dl)	Media ± ES	0,5911 ± 0,0268	0,5314 ± 0,0172	0,5473 ± 0,0146
	IC 95%	(0,538 - 0,645)	(0,497 - 0,565)	(0,519 - 0,576)
	n	62	171	233
	Min - Max	(0,1 - 1,13)	(0,1 - 1,3)	(0,1 - 1,3)
Fosf.Alc (UI/l)	Media ± ES	743,6043 ± 39,9486	794,6951 ± 29,9447	779,4884 ± 24,1613
	IC 95%	(664,721 - 822,488)	(735,82 - 853,57)	(732,029 - 826,948)
	n	164	387	551
	Min - Max	(98,8 - 3334)	(107 - 3562)	(98,8 - 3562)
CK (Ug/dl)	Media ± ES	155,2606 ± 7,0901	136,6106 ± 3,8907	142,5373 ± 3,5073
	IC 95%	(141,207 - 169,314)	(128,945 - 144,276)	(135,639 - 149,436)
	n	109	234	343
	Min - Max	(24,7 - 436)	(22,98 - 422)	(22,98 - 436)
k (mEq/l)	Media ± ES	4,2608 ± 0,0711	4,1793 ± 0,0334	4,2041 ± 0,0317
	IC 95%	(4,12 - 4,401)	(4,114 - 4,245)	(4,142 - 4,267)
	n	131	299	430
	Min - Max	(2,5 - 7,13)	(2,3 - 6,52)	(2,3 - 7,13)
Progest (ng/ml)	Media ± ES	0 ± 0	7,6527 ± 1,5542	7,6527 ± 1,5542
	IC 95%	(0 - 0)	(4,564 - 10,741)	(4,564 - 10,741)
	n	0	89	89
	Min - Max	(0 - 0)	(0,06 - 60)	(0,06 - 60)