



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Contaminantes ambientales persistentes y su influencia
sobre el éxito reproductor en una colonia de
Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*) en el
Mediterráneo occidental.

D. Pedro Javier Jiménez Montalbán

2017



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Contaminantes ambientales persistentes y su influencia
sobre el éxito reproductor en una colonia de
Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*) en el
Mediterráneo occidental.

Memoria presentada por

D. Pedro Javier Jiménez Montalbán

para optar al grado de doctor por la Universidad de Murcia.

DIRECTORES:

Dr. Antonio Juan García Fernández

Dra. M^a del Pilar Gómez Ramírez

AGRADECIMIENTOS.

A mis directores. Antonio Juan, que me acogió con los brazos abiertos en su grupo de investigación cuando la mala política pretendió alejarme de lo que era, es y será mi pasión, la conservación de la fauna silvestre. A Pilar, con la que he compartido momentos apasionantes en la naturaleza, y días con sus noches trabajando en la redacción de esta memoria, aunque fuera a través de la red de redes, y con la que espero seguir saliendo “al campo”, aunque tengamos que llevar a Einara en una mochila.

A los miembros del tribunal que respondieron a nuestra solicitud con tanta diligencia y rapidez, y que gracias a ello hoy estoy escribiendo estas letras. Muchas gracias.

A Alicia, mi compañera, mi esposa, mi vida, cuyo apoyo incondicional me ha dado fuerzas para terminar un trabajo de tantos años y sin cuyos conocimientos sobre los procesadores de texto me hubiese sido muy difícil ensamblar las más de 300 páginas de este documento, a pesar de todos los líos que he montado con las tablas mientras lo escribía. Te quiero.

A la memoria de mi padre, el Dr. D. José Jiménez Ferre al que quise dedicar este importante paso en mi carrera profesional y que lamentablemente no podrá estar conmigo para celebrar este momento. De él heredé mi “don de gentes”, mi capacidad para el chiste fácil, mi interés por investigar y conocer, mi espíritu emprendedor y aventurero, además de la hipercolesterolemia y la hipertensión. Te echo mucho de menos.

A mi madre, la persona que siempre estuvo ahí en mis éxitos y en mis derrotas, en mis alegrías y en mis tristezas y de la cual aprendí a ser tolerante y saber perdonar. Una luchadora nata a la que tengo que agradecer todo lo que soy.

A mis hermanos a los que quiero...a pesar de todo. A mi hermana, un cielo, siempre has estado cuando te he necesitado.

A Joaquín P., Sergio, Javier, Carlos, Miguel, Ramón, Nico, Rubén y todos aquellos con los que hice realidad el sueño de crear el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de la Región de Murcia y con los que compartí aquellos durísimos años de sus primeros pasos y todos los éxitos que vinieron después, y a los que desde estas letras hago el homenaje que su región nunca supo brindarles. Sois una parte muy importante de mi vida.

A mis compañeros de la Asociación de Naturalistas del Sureste (ANSE), que me enseñaron a observar y amar a la Naturaleza.

A los compañeros de mi grupo de investigación (Pedro, Isabel, Silvia, Emma, Pepe, Mari Paz y tantos otros que por él pasaron), con los que tantas horas de laboratorio, campo y cafetería he disfrutado.

A mis compañeros de la Sección Técnica de Veterinaria del Ayuntamiento de Murcia, José M^a, África, Carlos, Ana, Esther, etc., con los que llevo media vida trabajando y que cada día me brindan el cariño y la comprensión que una persona con mi carácter necesita.

A mis nuevos compañeros en la investigación de un medio, el marino, que me apasiona. A Charton, José Manuel, Irene, Ramón y tantos otros con los que me sumerjo en las profundidades de un mar que, aunque un poco contaminado, me tiene secuestrado el corazón.

A todos aquellos “técnicos” que intentaron que este trabajo nunca viera la luz y que pusieron todas las trabas administrativas posibles para ello. Simplemente decirles que no lo consiguieron.

A Diego, que nunca ha dejado de apoyarme y ayudarme a pesar de todo y al que estaré eternamente agradecido por ello.

Por último, a Virginia, mi hija, proyecto de veterinaria, que empieza su andadura en esta difícil carrera en la que va a tener que trabajar duro. Por su capacidad de sobreponerse a las limitaciones que la vida le ha impuesto, por ser una luchadora y por seguir siendo ese ángel que tuve la suerte que apareciese en mi vida hace 18 años, hace que cada día me sienta más orgulloso.



ÍNDICE





I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	7
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
III.1. MONITORIZACIÓN DE LA DISPONIBILIDAD DE RECURSOS TRÓFICOS PARA LA GAVIOTA DE AUDOUIN (<i>Ichthyæetus audouinii</i>) EN EL MEDIO MARINO.....	13
III.2. BIOMONITORIZACIÓN DE CONTAMINANTES AMBIENTALES	15
III.2.1. LA UTILIDAD DE LAS AVES COMO BIOMONITORAS DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL	17
III.2.2. UTILIDAD DEL ESTUDIO DE LA DESCENDENCIA EN BIOMONITORIZACIÓN.....	18
III.2.3. NATURALEZA DE LAS MUESTRAS EN ESTUDIOS DE BIOMONITORIZACIÓN CON ANIMALES Y BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN.	19
III.3. EFECTOS DEL MUESTREO SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL.....	23
III.4. CONTAMINANTES AMBIENTALES OBJETO DE ESTUDIO.	23
III.4.1. METALES PESADOS.....	24
III.4.1.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS METALES.....	24
III.4.1.2. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS EN AVES.	31
III.4.1.3. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR METALES EN LAS AVES.....	35
III.4.1.4. INTERPRETACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS.....	40
III.4.2. COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES (COPs).....	53
III.4.2.1. INSECTICIDAS ORGANOCORADOS.....	55
III.4.2.2. BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs).	59
III.4.2.3. CINÉTICA DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES (COPs).	61
III.4.2.4. FACTORES QUE AFECTAN A LA TOXICIDAD DE LOS COPs.	63
III.4.2.5. TOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN LAS AVES.	65
III.4.2.6. INTERPRETACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN AVES.	69
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	123
IV.1. ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO.	125
IV.2. ÁREA DE ESTUDIO.....	130
IV.3. ESTUDIOS PRELIMINARES.....	135
IV.4. METODOLOGÍA DE RECOGIDA DE MUESTRAS Y CONSERVACIÓN.	136
IV.5. DETERMINACIÓN DEL SEXO DE LOS POLLOS.....	141
IV.6. ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.	142
IV.6.1. TÉCNICA ANALÍTICA.....	142



IV.6.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA.	146
IV.6.3. ANÁLISIS DE METALES PESADOS.	149
IV.7. ANÁLISIS DE COMPUESTOS ORGANOCORADOS Y CONGENERES DE PCB's EN MUESTRAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.	149
IV.7.1. TÉCNICA ANALÍTICA.	149
IV.7.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA.	150
IV.7.3. ANÁLISIS DE OC Y PCB's.	151
IV.8. ESTUDIO DE LA ULTRAESTRUCTURA DE LA CÁSCARA DE LOS HUEVOS.	152
IV.8.1. TÉCNICA DE FIJACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.	152
IV.8.2. CAPTURA DE IMÁGENES.	153
IV.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.	153
IV.9.1. ESTUDIOS PRELIMINARES.	153
IV.9.2. METALES PESADOS EN SANGRE.	154
IV.9.3. ESTUDIOS DE PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN HUEVOS.	155
IV.9.4. METALES PESADOS EN CÁSCARA DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS.	155
IV.9.5. COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN HUEVOS NO ECLOSIONADOS.	156
IV.9.6. METALES PESADOS EN PLUMAS.	156
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	165
V.1. ESTUDIOS PRELIMINARES EN LAS COLONIAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.	167
V.1.1. EFECTOS DEL MUESTREO SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL.	167
V.1.2. FALLOS REPRODUCTIVOS PREVIOS A LA INTERVENCIÓN EN LA COLONIA.	169
V.1.3. DETERMINACIÓN DEL SEXO EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.	170
V.2. EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN DE DOS COLONIAS DE REPRODUCCIÓN DEL SURESTE DE ESPAÑA.	174
V.2.1. METALES PESADOS (Cd, Pb, Cu, Zn y Hg) EN SANGRE DE POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN. ...	174
V.2.2. DIFERENCIAS EN NIVELES DE METALES EN SANGRE ENTRE COLONIAS DE REPRODUCCIÓN DE GAVIOTA DE AUDOUIN.	177
V.2.3. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES.	188
V.2.3.1. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES EN ISLA GROSA.	188
V.2.3.2. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES EN LAS SALINAS DE TORREVIEJA.	189
V.2.4. RESULTADO POR SEXOS DE LAS AVES MUESTREADAS.	190



V.2.5. DIFERENCIAS ESPACIO - TEMPORALES EN LOS NIVELES DE METALES EN SANGRE.....	191
V.2.5.1. ESTUDIO ESPACIO-TEMPORAL EN LA COLONIA DE ISLA GROSA.....	195
V.2.5.2. ESTUDIO ESPACIO-TEMPORAL EN LA COLONIA DE LAS SALINAS DE TORREVIEJA.....	198
V.2.6. EVALUACIÓN DE EFECTOS DE LOS METALES SOBRE LA PRODUCTIVIDAD.....	201
V.2.6.1. CORRELACIONES ENTRE PRODUCTIVIDAD Y CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN LOS INDIVIDUOS PROCEDENTES DE ISLA GROSA.....	204
V.2.6.2. CORRELACIONES ENTRE PRODUCTIVIDAD Y CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN LOS INDIVIDUOS PROCEDENTES DE TORREVIEJA.	204
V.2.7. MODELIZACIÓN DEL EFECTO DE LOS METALES FRENTE A LA PRODUCTIVIDAD.	206
V.3. METALES PESADOS Y COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN HUEVOS NO ECLOSIONADOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN: TENDENCIAS ESPACIO-TEMPORALES Y EVALUACIÓN DEL RIESGO	208
V.3.1. ESTUDIO DE PARÁMETROS BIOMÉTRICOS DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN. .	209
V.3.2. ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES EN LA CÁSCARA DE HUEVO.....	211
V.3.2.1. DIFERENCIAS EN CONCENTRACIONES DE METALES EN HUEVOS ENTRE COLONIAS DE REPRODUCCIÓN.....	215
V.3.2.2. DIFERENCIAS EN CONCENTRACIONES DE METALES ENTRE HUEVOS EMBRIONADOS Y NO EMBRIONADOS DE LA COLONIA DE ISLA GROSA.....	216
V.3.2.3. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES EN HUEVOS DE LA COLONIA DE ISLA GROSA. ...	217
V.3.2.4. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES Y PARÁMETROS BIOMÉTRICOS.	218
V.3.3. ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE ORGANOCORADOS EN CONTENIDO DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS.....	220
V.3.3.1. ESTUDIO DE LAS RELACIONES ENTRE ORGANOHALOGENADOS Y ÉXITO REPRODUCTIVO.....	232
V.4. METALES PESADOS (Cd, Pb, Cu, Zn Y Hg) EN PLUMAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL.	237
V.4.1. ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES EN PLUMAS DE LAS DIFERENTES COLONIAS.	239
V.4.2. ANÁLISIS DE CADA COLONIA POR GRUPOS DE EDAD.....	239
V.4.2.1. ESTUDIO DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN POLLOS, EN FUNCIÓN DE LA COLONIA.	243
V.4.2.2. ESTUDIO DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN ADULTOS, EN FUNCIÓN DE LA COLONIA.....	251
V.4.3. MODELIZACIÓN DEL EFECTO GEOGRÁFICO Y DE LA EDAD SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE LOS DIFERENTES METALES EN PLUMAS.	258



V.4.4. ESTUDIO DE LA PLUMA COMO MATRIZ BIOINDICADORA DE EXPOSICIÓN A MERCURIO EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.....	260
V.4.5. ESTUDIO DE LAS DIFERENCIAS ENTRE CONCENTRACIONES DE CONTAMINANTES METÁLICOS (Cd, Pb, Cu y Zn) ENCONTRADOS EN CÁSCARA DE HUEVO Y PLUMAS DE ADULTOS.	263
VI. CONCLUSIONES.....	291
VII. RESUMEN - ABSTRACT	297



I. INTRODUCCIÓN





La contaminación del medio marino es una de las asignaturas pendientes de la humanidad más relevantes para el siglo XXI. Hasta hace bien poco, el ser humano creía que la eliminación de sus desechos en la gran masa de agua oceánica era la solución más aceptable para deshacerse de todo aquello que, por cuestiones económicas o técnicas, no era capaz de reciclar o simplemente inertizar: “La solución está en la dilución” ha sido la máxima de la civilización moderna (¹Henry y Heinke, 1999), independientemente de su grado de industrialización o desarrollo aunque, obviamente, son los países más desarrollados los que ejecutan estas acciones con mayor contundencia y por ende con mayor grado de impacto sobre el medio ambiente marino (²Cohen, 2002).

Desde las playas de Dar es Salaam en Tanzania, pasando por la ciudad de Zabwe en Zambia hasta el delta del río Mississippi en Estados Unidos y llegando hasta las frías aguas antárticas o al río Yangtze en China (³Floehr *et al.*, 2013), no hay un rincón en el mundo en donde no se haya llevado a los océanos al borde del colapso con esta política de la “dilución”.

Pero no todos los contaminantes que se vierten al medio marino flotan en él y se hacen visibles al ojo humano, como la Isla de plástico que con una extensión de 1.400.000km² flota atrapada en las corrientes circulares del Pacífico Norte (⁴Eriksen *et al.*, 2014). La mayoría (plaguicidas, productos químicos de naturaleza urbana e industrial, fertilizantes, derivados del petróleo, etc.), se encuentran diluidos en la columna de agua, adsorbidos en el sustrato del fondo oceánico, o ligados a los organismos vivos que en ellos habitan (⁵Fergusson, 1990), originando procesos de bioacumulación y, lo que es más grave, de biomagnificación a lo largo de la cadena trófica y retornando, de una u otra forma, hacia los seres que los introdujeron alguna vez en ese medio (⁶PNUMA, 2002).

Tampoco todos los contaminantes son vertidos a los medios acuáticos de forma directa. Algunos de ellos, la mayoría producidos y vertidos en zonas muy alejadas del medio marino formando parte del ciclo hidrológico o mediante fenómenos deposición atmosférica (“grasshopper effect”), terminan definitivamente depositándose en el mar (⁷Chester *et al.*, 1997). El Mediterráneo, el mar interior más grande del mundo, con aproximadamente 2,5 millones de kilómetros cuadrados, alcanza también las tasas más elevadas de contaminación, en especial de hidrocarburos vertidos por las industrias químicas localizadas a lo largo de sus costas. “Anualmente, el Mediterráneo recibe entre 400.000 y 500.000 toneladas de petróleo y residuos oleosos” (⁸Oceana,2010; ⁹Lapiedra, 2009).

Aunque algunos compuestos se encuentran en el medio ambiente desde el origen del planeta o se liberan al mismo a consecuencia de fenómenos naturales, es a partir de la



Revolución Industrial y de lo que se hizo llamar la Revolución Verde, ideada por el ingeniero agrónomo estadounidense Norman Borlaug y denominada así en 1968 por el exdirector del USAID William Gaud, cuando el interés por producir más cantidad y más barato, tiene como más directa consecuencia el inicio de una escalada de contaminación ambiental que ha llegado hasta nuestros días.

Desde entonces, el diseño y fabricación de nuevas moléculas y procesos productivos ha sido continuo, y este fenómeno ha expuesto a los seres vivos a una serie de contaminantes cuyos efectos a largo plazo no son bien conocidos aún en la actualidad. Así, en el caso de los metales pesados y organohalogenados, diversos estudios demostraron que su exposición crónica podía causar alteraciones sobre el sistema endocrino, reproductivo y nervioso de los animales, las cuales se relacionaron con declives poblacionales de un número importante de especies (¹⁰Ratcliffe, 1970; ¹¹Scheuhammer, 1987; ¹²Newton y Bogan, 1974; ¹³Jiménez *et al.*, 2005, ¹⁴Bustnes *et al.*, 2015). La toma de conciencia sobre las consecuencias, en cuanto a efectos para la salud, de esta continua exposición, llevó a la implementación de medidas legislativas para reducir y minimizar riesgos, con la consecuente disminución de la presencia de dichos contaminantes en el medio y en los seres vivos (¹⁵Bustnes *et al.*, 2007; ¹⁶García-Fernández *et al.*, 2008). Sin embargo, debido a su elevada persistencia y capacidad para bioacumularse y biomagnificarse a través de la cadena trófica, las concentraciones ambientales de estos pueden ser todavía lo suficientemente elevadas como para suponer un riesgo para el medio ambiente y la salud pública.

La prohibición del uso o fabricación de determinados Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) en el área mediterránea, se ha traducido en una disminución de las concentraciones de estos compuestos a partir de 1970. No obstante, en algunas zonas, el nivel de contaminación por metales pesados en especies consideradas como bioindicadoras supera los niveles mínimos recomendados. Según una síntesis de medidas realizada el año 2006 y según otras medidas, en dos lugares de nuestra costa, la concentración de mercurio ha subido entre 1991 y 2003, en lugar de bajar con la tónica general (⁹Lapiedra, 2009). Al mismo tiempo, y hablando más en general, determinados organismos marinos presentan concentraciones de COPs, hasta cien millones de veces superiores a las de las propias aguas marinas (⁹Lapiedra, 2009).

Los estudios sobre biología de la conservación, epidemiología y toxicología son útiles porque ayudan a profundizar en el conocimiento de las respuestas fisiológicas de los vertebrados silvestres a los factores bióticos y abióticos (¹⁷Wikelski y Cooke, 2006; ¹⁸Cooke *et al.*, 2012). Por este motivo, y con el fin de satisfacer el creciente interés por conocer los niveles de contaminantes ambientales presentes en el medio ambiente y los



efectos que pueden causar a largo plazo sobre los seres vivos, se llevan a cabo los programas de monitorización ambiental (¹⁹García-Fernández y María-Mojica, 2000).

Desde hace décadas se vienen analizando un gran número de contaminantes ambientales en aire, agua o sedimentos mediante programas de monitorización ambiental, que dan información sobre el grado de contaminación en un lugar determinado. Sin embargo, estos estudios no proporcionan información sobre el grado de exposición a los compuestos tóxicos, la biodisponibilidad de los mismos y los efectos relacionados con dicha exposición en los seres vivos (²⁰Beeby, 2001).

En los animales de vida libre los primeros estudios sobre la exposición a diferentes contaminantes ambientales comienzan a raíz de la observación del declive poblacional de ciertas aves rapaces en la década de los años 60. Este declive se relacionó con el uso de ciertas moléculas cloradas como el DDT, cuyo uso como insecticida comenzó a extenderse a partir de 1940 y en el que se comprobó que su persistencia ambiental y sus efectos a largo plazo eran notorias (²¹Hotchkiss y Pough, 1946; ²²Newton y Wyllie, 1992; ²³Newman, 2000; ²⁴García-Fernández, 2014).

Según el Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos (²⁵NRC, 1991), los objetivos de la monitorización con animales centinela incluyen la recolección de datos para estimar riesgos para la salud humana, identificar contaminantes en la cadena alimentaria, determinar los niveles de contaminación ambiental, e identificar efectos adversos sobre los propios animales. En este sentido, las aves, y más particularmente las ligadas a los medios acuáticos, han sido ampliamente utilizadas por su condición de predadores selectivos y/o oportunistas, especialmente en el estudio de los contaminantes bioacumulables y biomagnificables a lo largo de la cadena trófica (²⁶Furness, 1993; ²⁷Burger, 1993, ^{28,29}Espín *et al.*, 2012, 2016). Así, por ejemplo, la información obtenida de estos estudios de monitorización en aves puede ser utilizada en los procedimientos de evaluación de riesgos regulados por el Reglamento 1907/2006 REACH de la Unión Europea (³⁰Duke, 2008). Este Reglamento, que consiste en un sistema integrado de registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias y preparados químicos, pretende garantizar un nivel elevado de protección de la salud humana y el medio ambiente (³¹Agencia Europea para la Seguridad y la Salud en el Trabajo, 2006). En este sentido, los resultados obtenidos en la monitorización en determinadas aves pueden además incentivar el estudio en otras que pudieran pasar inadvertidas (³⁰Duke, 2008).

Entre las ventajas del uso de animales para evaluar el grado de contaminación se encuentra el hecho de que permite correlacionar los niveles de contaminantes presentes en fluidos, tejidos y sus productos, con los presentes en su nicho ecológico (³²Rose y



Parker, 1982; ³³Burger, 1996; ³⁴Dauwe *et al.*, 2000, ³⁵Becker, 2003). Además, el estudio de este tipo de muestras permite obtener datos sobre los posibles efectos adversos sobre la propia especie, sobre otras cuya conservación se encuentra comprometida y, cuando la especie estudiada se sitúa en la parte alta de la cadena trófica, se obtiene también información del riesgo de exposición en el hombre, y con ello de los efectos sobre su salud (¹⁹García-Fernández y María-Mojica, 2000). De hecho, la biomonitorización es una herramienta de gran utilidad para la protección de la salud frente a la exposición a sustancias químicas a través de un análisis sistemático de contaminantes y/o sus metabolitos en muestras biológicas. Actualmente muchos gobiernos están trabajando para integrar los programas de biomonitorización en los planes de vigilancia ambiental de contaminantes en alimentos, aguas y aire, proporcionando una evaluación más precisa de la exposición y caracterización del riesgo en poblaciones derivado de la contaminación ambiental (³⁶Roca y Yusá, 2013).

Ciertas aves acuáticas, como la Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*), se consideran buenas indicadores de la calidad del hábitat y de las posibles alteraciones que sobre él se producen (²⁴⁹Espín *et al.*, 2016). Esto se debe a que, debido a su carácter predador y en ocasiones por su especialización en el uso de los recursos alimenticios, son sensibles a los efectos de los contaminantes ambientales, especialmente de aquellos compuestos bioacumulables y biomagnificables a través de la cadena trófica. Por este motivo, y porque en general estas aves han sido infrautilizadas en este tipo de estudios, algunos autores sugieren la necesidad de continuar y mejorar los estudios de biomonitorización en estas especies(³⁷Burgeot *et al.*, 1996; ³⁸Jaspers *et al.*, 2004; ³⁹Pérez *et al.*, 2005;⁴⁰Rattner, 2009).



II. OBJETIVOS





1. Estudio de los efectos del muestreo toxicológico invasivo sobre el bienestar animal en la Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*).

1.1. Analizar la temperatura corporal de los pollos, post-captura, debidos al manejo y a la desprotección, con el fin de evaluar el grado de estrés al que se somete a los mismos.

2. Estudio de la mortalidad perinatal previa a la intervención de la colonia.

2.1. Recuento de casos de mortalidad embrionaria e infantil en la colonia de estudio principal (Isla Grosa) con el fin de valorar la el sesgo producido por la pérdida de ejemplares.

3. Estudio de la proporción de sexos en la colonia original de nidificación.

3.1. Análisis genético para determinar el “sex-ratio” de los pollos de la colonia de Isla Grosa como medio de valorar de forma indirecta la disponibilidad de recursos tróficos.

4. Evaluación de la exposición a metales (Zn, Cd, Pb, Cu y Hg) en sangre de pollos de Gaviota de Audouin en dos colonias de reproducción del Mediterráneo Occidental.

4.1. Conocer los niveles de exposición a zinc, cadmio, plomo, cobre y mercurio en pollos de Gaviota de Audouin nacidos entre los años 2002 y 2006 en la ZEPA ES0000200-Isla Grosa (Murcia) y entre 2008 y 2011 en las Salinas de Torre Vieja. ZEPA ES0000485, Lagunas de la Mata y Torre Vieja (Alicante).

4.2. Evaluar la Influencia del tipo de nicho de nidificación (insular vs continental) sobre la exposición a metales.

4.3. Evaluar la influencia de los metales pesados sobre la productividad de la especie.

5. Estudio de los residuos de compuestos organoclorados y metales pesados (Zn, Cd, Pb y Cu) en huevos de dos colonias de nidificación.

5.1. Evaluar los niveles de contaminantes organohalogenados y metales pesados presentes en huevos no eclosionados de la ZEPA Isla Grossa (ZEPAES0000200-Isla Grosa. Murcia) e Isla Moltona (ZEPAES0000083-Archipielago de Cabrera. Islas Baleares).

5.2. Establecer posibles relaciones de la exposición a contaminantes metálicos y organohalogenados con el fracaso reproductivo.



- 6. Evaluación de la exposición a metales (Zn, Cd, Pb, Cu y Hg) en plumas de Gaviota de Audouin en tres colonias reproductivas del Mediterráneo Occidental. Conocer los niveles de exposición a zinc, cadmio, plomo, cobre y mercurio en pollos y adultos de las colonias establecidas en la ZEPA Isla Grosa (ZEPAES0000200-Isla Grosa) (Murcia), Lagunas de la Mata y Torrevieja (ZEPA ES0000485)(Alicante) y Punta de la Banya (ZEPA ES0000020-Delta del Ebro)(San Carlos de la Rápita).**
- 6.1. Estudio de la pluma, de pollos y adultos, como matriz bioindicadora de exposición a contaminantes metálicos en la Gaviota de Audouin.
- 6.2. Determinar el grado de contaminación metálica en cada territorio a través de los contaminantes presentes en las plumas.



III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA





III.1. MONITORIZACIÓN DE LA DISPONIBILIDAD DE RECURSOS TRÓFICOS PARA LA GAVIOTA DE AUDOUIN (*Ichthyaetus audouinii*) EN EL MEDIO MARINO.

Los recursos tróficos de los mares son limitados. La sobrepesca, el calentamiento global y la contaminación de los mares han diezclado las poblaciones piscívoras del planeta. La pesca en el Mediterráneo tiene una tradición milenaria. Las referencias a ella son abundantes en los clásicos griegos y latinos, y el pescado, o sus productos transformados, como el “garum” eran de consumo habitual (⁴¹Azcoytia, 2007). El progreso tecnológico y los nuevos artes que se han desarrollado a través de los siglos, han ido incrementando la capacidad pesquera de los pueblos costeros. Sin embargo, la generalización del uso del motor, hace unos cien años, y los nuevos materiales aparecidos más recientemente, han provocado que en el siglo XX la presión pesquera aumentara enormemente, con graves consecuencias para el estado de los recursos pesqueros. (⁴²Lleonart, 2011).

El Mediterráneo se caracteriza, en comparación con el Atlántico adyacente, por su pobreza productiva y por la estrechez de sus plataformas continentales. De hecho, desde que se tienen datos, las capturas han ido disminuyendo década tras década (en 1950 la pesca en el Mediterráneo y Mar Negro suponía el 3,8% de la pesca mundial observándose una disminución hasta el 1,7% en 2009) (⁴²Lleonart, 2011).

Los peces pelágicos pequeños, de los que se alimenta principalmente la Gaviota de Audouin (⁴³Witt *et al.*, 1981; ⁴⁴Ruiz *et al.*, 1996), son un grupo de especies que viven más o menos cerca de la superficie sin relación con el fondo marino, son de pequeño tamaño, no migradoras y presentan una distribución bastante costera (⁴²Lleonart, 2011). Estos peces, constituyen el principal recurso pesquero del Mediterráneo en volumen de captura, sustentada básicamente en tres especies: la Sardina (*Sardina pilchardus*), la Anchoa (*Engraulis encrasicolus*) y la Alacha (*Sardinella aurita*). Las tres producen cerca del 40% de las capturas en el Mediterráneo (⁴⁵GFCM, 2010), siendo la principal la sardina (⁴²Lleonart, 2011). La Alacha es una especie de distribución tropical y se captura sobre todo en la ribera sur del Mediterráneo. Los pelágicos pequeños se capturan principalmente con cerco con luz. Si añadimos los pelágicos de tamaño medio, principalmente jureles (*Trachurus trachurus*) y caballas (*Scomber scombrus*), la importancia del grupo pelágico se incrementa hasta más de la mitad de la captura total. Las especies demersales habitan en el fondo marino o viven en estrecha relación con él (⁴²Lleonart, 2011). El arrastre de fondo es el arte más importante en nuestras latitudes para esta pesca. La trascendencia de este tipo de pesca para la Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*), viene determinada por los descartes, es decir aquellos peces que por talla o por interés comercial no se llevan a lonja, como pequeñas merluzas (*Merluccius merluccius*), salmonetes (*Mullus spp.*), bogas (*Boops boops*) y cefalópodos,



los cuales suponen un recurso alimenticio explotado en algunas latitudes por gaviotas y otras aves marinas.

La ecología alimenticia de la Gaviota de Audouin ha sido ampliamente estudiada en las aguas del noreste peninsular. Las pesquerías así como los descartes resultantes de las mismas son uno de los factores que influyen de forma más importante sobre la ecología de esta especie (⁴⁴Ruiz *et al.*, 1996). De hecho, en la Región de Murcia su principal fuente de alimento la constituyen pequeños peces pelágicos que captura activamente durante las operaciones que los barcos de pesca realizan en el cerco y con menos intensidad los descartes de la flota de arrastre (⁴⁶ 03/Nat/E/000061, Proyecto Life, 2007).

Desde 1998 se vienen estableciendo vedas para las flotas de arrastre y cerco, lo que implica una paralización temporal de las mismas. Así como la flota de cerco realiza sus paradas cuando la mayoría del contingente de Gaviota de Audouin se encuentra en sus cuarteles de invierno, la flota de arrastre, en la región de Murcia, la realiza entre abril y junio de cada año, en pleno periodo reproductivo (⁴⁷C&C-MEDIO AMBIENTE, 2006).

Por otro lado, la acuicultura ha adquirido una importancia apreciable en el mediterráneo. En los años sesenta apenas suponía un 1% del rendimiento total mientras que en la actualidad se ha superado el 20% (⁴²Lleonart, 2011). En la región de Murcia, al finalizar nuestro periodo de estudio, había catorce instalaciones dedicadas a la acuicultura marina en funcionamiento, siete de ellas en el área de campeo de la Gaviota de Audouin. Se ha comprobado cómo esta especie puede visitar para alimentarse las instalaciones de maricultura cuando se encuentra en periodo reproductivo (⁴⁸Álamo, 2009).

La disponibilidad de recursos tróficos a la hora de concluir con éxito el periodo reproductivo es un parámetro a tener en cuenta ya que los parentales, principalmente la hembra, deben adoptar una serie de estrategias para garantizar la supervivencia de la nidada.

La teoría de la asignación de sexo predice que, cuando las circunstancias alteran la condición física y nutricional de los machos y de las hembras que van a reproducirse, los padres deben de manipular el sexo de la progenie para asegurar el máximo de beneficios para la salud de esta antes de la puesta (⁴⁹Trivers y Willard, 1973). Cuando los recursos alimenticios son escasos los parentales, por tanto, deben de manipular el sexo de la pollada para producir el sexo menos vulnerable (⁵⁰Genovart *et al.*, 2003).

Así por ejemplo, cuando el coste energético de criar machos o hembras varía sustancialmente, y la supervivencia del pollo de un sexo determinado es menos dependiente, que el del otro sexo, del esfuerzo de los progenitores en su cuidado, las



hembras reproductoras tienden a producir más pollos de este sexo, si esas hembras están en buena condición física. Por otro lado la condición física de los hijos al final del periodo de cuidados parentales se correlaciona con la condición física de la madre durante ese periodo (⁴⁹Trivers y Willard, 1973;⁵¹Clutton-Brock, 1991).

En aves con dimorfismo sexual, cuyos huevos eclosionan asincrónicamente, los machos requieren mayor cantidad de recursos energéticos para su crianza que las hembras (⁵²Fiala y Congdon, 1983; Wiebe y Bortolotti, 1992). Por ese motivo, el sex ratio de la progenie, además de estar condicionado por la condición física de la madre, también lo está por la disponibilidad alimenticia (⁵³Wiebe y Bortolotti, 1992; ⁵⁴Paterson y Emle, 1980), ya que la supervivencia de los diferentes miembros de la pollada puede estar determinada por la diferencia de crecimiento entre los sexos (⁵⁵Clutton-Brock *et al.*, 1985).

Los pollos macho de Gaviota de Audouin tienen un mayor tamaño que las hembras cuando llegan a la edad a la que comienzan a salir las plumas (⁵⁶Oró, 1998). Estos, merced a su mayor tamaño, presentan una mayor demanda de alimento durante su desarrollo (⁵²Fiala y Congdon, 1983; ⁵⁷Anderson *et al.*, 1993). Este hecho ha sido constatado también en otras especies de gaviotas (⁵⁸Alonso-Alvarez y Velando, 2003). Por ello, en una colonia en la que los parentales están bien alimentados la proporción de machos debería de ser superior a la de las hembras.

Una razón que justifica la escasez de estudios relevantes que relacionen la condición física de la hembra con el sex ratio (relación entre el número de machos y el número de hembras) podría ser la dificultad de determinar el sexo en los pollos con precisión, en la mayoría de las especies. No obstante, en la actualidad se cuenta con técnicas moleculares capaces de investigar el sexo de la progenie incluso de los embriones prácticamente en todas las especies, lo que ha incrementado el número de estudios en esta materia(⁵⁸Alonso-Álvarez y Velando, 2003).

III.2. BIOMONITORIZACIÓN DE CONTAMINANTES AMBIENTALES.

Los programas de monitorización ambiental se llevan a cabo con el fin de satisfacer el creciente interés general de conocer los niveles de contaminantes ambientales presentes en el medio ambiente y los efectos que pueden causar a largo plazo sobre los seres vivos (¹⁹García-Fernández y María-Mojica, 2000). Dichos programas consisten en la recolección repetida de datos durante un periodo de tiempo con el fin de determinar tendencias en los parámetros medioambientales (⁵⁹Schwartz, 2005).

Muchos de estos programas de monitorización ambiental se limitan a realizar mediciones



sobre parámetros fisicoquímicos en el medio ambiente, durante un periodo de tiempo. Esto, nos daría información sobre tendencias en el grado de contaminación del lugar estudiado, pero no sobre el grado de exposición a los contaminantes, su biodisponibilidad y los efectos relacionados con dicha exposición (²⁰Beeby, 2001).

Los organismos sobre los que se estudia el impacto de las sustancias químicas con el fin de valorar sus efectos y hacerlos extensibles a otras especies animales se denominan biomonitores o monitores biológicos (²⁰Beeby, 2001; ⁶⁰Rombolà *et al.*, 2013). El principio que rige la biomonitorización prevé la observación de los efectos biológicos, individualmente o sobre las poblaciones (⁶¹Ibarluzea *et al.*, 2016). Dichos efectos deben ser medibles a través de la observación de diversos grados de alteración morfológica, de comportamiento, fisiológica, celular que en casos extremos conllevan la muerte del individuo o la desaparición de una población (⁶²Furness *et al.*, 1993; ³⁵Becker, 2003; ⁶³Markert *et al.*, 2003). Si se ahonda en la clasificación de los organismos objeto de la biomonitorización podemos definir como especies “monitoras” aquellas cuyas alteraciones en sus funciones o rendimiento indican el impacto causado por los tóxicos, especies “indicadoras” aquellas cuya ausencia o presencia indican la magnitud de la contaminación y especies “centinelas” aquellas capaces de acumular contaminantes en sus tejidos sin sufrir sus efectos adversos (²⁰Beeby, 2001).

De acuerdo a los parámetros dictaminados por el ²⁵NRC (1991) para que una especie sea considerada una buena especie centinela debe cumplir los siguientes requisitos:

- Responder a la exposición a los agentes o grupo de agentes de forma medible: En el caso de especies extremadamente sensibles, un rápido descenso en sus poblaciones puede ser detectado fácilmente por los investigadores, mientras que si las especies estudiadas son más resistentes a dicha exposición, los animales pueden ser capturados periódicamente para medir los contaminantes y evaluar los efectos subletales (inmunológicos, reproductivos, metabólicos, etc.). Por ello la especie debe ser longeva, para que pueda acumular las concentraciones capaces de provocar los efectos adversos.
- Poseer un territorio o área de campeo que esté incluida en el área de monitorización: Si la zona que se pretende evaluar es pequeña o está muy localizada, no se podrá utilizar una especie cuyo área de campeo abarque muchos kilómetros cuadrados o visite la zona de estudio ocasionalmente u otras zonas contaminadas. Por este motivo, animales con reducido territorio y las especies no migradoras son las más adecuadas para este tipo de estudios.



- Ser fácilmente censadas y capturadas: Animales pequeños son más fácilmente capturables, por el contrario, a los animales grandes se les pueden colocar instrumentos de seguimiento con mayor facilidad.
- Existir un tamaño de población suficiente y una densidad adecuada: Animales pertenecientes a una especie rara o en peligro pueden no ser los candidatos más adecuados para este tipo de estudios, debido a su baja detectabilidad. Se trata de poblaciones cuyos individuos no se localizan con facilidad, pueden verse fácilmente influenciados por factores estresantes que enmascaren los efectos de los contaminantes y además su estado de protección a nivel legislativo puede plantear problemas para su captura y toma de muestras.

Cuando en el lugar que se pretenda biomonitorizar solo existan especies migradoras, dicho problema puede ser evitado utilizando para ello tejidos que sean indicadores de exposición reciente como la sangre (⁶⁴Maceda-Veiga, 2015), o especies en las que la edad se pueda determinar visualmente eligiendo de esta forma a los animales jóvenes o de vida más corta (⁶⁵Moore, 1996).

No obstante, siguiendo estos preceptos, aunque seamos capaces de identificar a una especie como una adecuada biomonitora, todavía existe la dificultad añadida de relacionar los contaminantes encontrados con los efectos biológicos observados (⁶⁶Forbes y Forbes, 1994). Una adecuada interpretación de las concentraciones encontradas en los diferentes tejidos de los animales nos proporcionará información acerca de los contaminantes presentes en su hábitat, sus hábitos alimenticios o la capacidad de biomagnificación de dicho contaminante a lo largo de la cadena trófica. Aun así destacar que, el hecho de que los contaminantes puedan ejercer sus perjudiciales efectos a distintos niveles del organismo simultáneamente, que los animales puedan estar expuestos en la naturaleza a distintas combinaciones de los mismos y que la misma concentración de un mismo compuesto pueda causar distintos efectos en función de la especie, la edad o el estado fisiológico del individuo, son algunos factores que dificultan la interpretación de resultados (⁶⁷Beyer, 1996).

III.2.1. LA UTILIDAD DE LAS AVES COMO BIOMONITORAS DE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL.

La idea de que las aves pueden ser utilizadas como biomonitoras no es tan reciente. Ya Aristóteles en su “Historia Animalium” escrita en el año 342 A.C. describe como el comportamiento de las grullas (*Grus grus*) era capaz de predecir los cambios climáticos: “ellas volarán alto y a gran distancia en el aire para conseguir una gran panorámica; si ellas ven nubes y signos de mal tiempo volarán de nuevo abajo y se quedarán quietas”



(⁶⁸Thompson, 1910).

El valor de las aves en los estudios de biomonitorización de contaminantes ambientales es de elevado interés, y la existencia de numerosos programas de este tipo establecidos por instituciones gubernamentales y no gubernamentales, son prueba inequívoca de ello (³⁵Becker, 2003; ²⁴García-Fernández, 2014; ⁶⁹Gómez-Ramírez *et al.*, 2014). Las aves ofrecen una serie de ventajas muy particulares como biomonitoras de contaminación ambiental. Se sitúan en los escalones superiores de las cadenas tróficas en los ecosistemas pudiendo proveernos de información sobre el alcance de la contaminación en toda la cadena trófica. Además, su ecología y comportamiento están sobradamente estudiados, lo que nos permite obtener datos de vigilancia fácilmente incorporables a un programa de biomonitorización. Por otro lado, los niveles de contaminantes presentes en sus tejidos, fluidos y excretas, se pueden correlacionar con los niveles del medio que les circunda. El estudio de dichos niveles nos proporciona información acerca de los posibles efectos patológicos que pudieran producir los diferentes contaminantes sobre estos individuos. A su vez los datos recopilados pueden resultar fundamentales en el diseño de nuevos programas de biomonitorización cada vez más eficaces (²⁶Furness, 1993; ²⁴García-Fernández, 2014).

Por otro lado, las aves marinas han surgido como una valiosa herramienta en los estudios de biomonitorización, siendo buenos integradores espaciotemporales de los niveles de contaminantes en estos ecosistemas acuáticos tan importantes para el ser humano (⁷⁰Stewart *et al.*, 1997). Diversos trabajos han mostrado que las concentraciones de algunos contaminantes en las aves marinas poseen un menor coeficiente de variación que el observado en peces o mamíferos marinos. De esta forma, los intervalos de confianza que ofrece el análisis de un número relativamente pequeño de muestras de aves es similar al obtenido analizando un número marcadamente superior de otros grupos de animales (⁷¹Gilbertson *et al.*, 1987).

III.2.2. UTILIDAD DEL ESTUDIO DE LA DESCENDENCIA EN BIOMONITORIZACIÓN.

Numerosas investigaciones recientes han utilizado a los pollos de diferentes especies de aves, como indicadores de contaminación local en sus estudios de biomonitorización ambiental (⁷²Scharenberg, 1991;; ⁷³Van Wyk *et al.*, 2001; ⁷⁴Baos *et al.*, 2006; ⁷⁵Gómez-Ramírez, 2011; ⁷⁶Espín, 2014, ⁷⁷De la Casa Resino, 2015).

Por un lado, la toma de muestras de pollos resulta más eficiente y menos costosa que la de adultos. Además, el alimento consumido por los pollos en desarrollo es obtenido normalmente de zonas cercanas a la zona de nidificación y, por tanto, se relaciona



directamente con el área de campeo de los padres durante el periodo que dura la cría de estos. Por otro lado, los niveles en pollos tienen menor variabilidad que en adultos porque los pollos suelen ser alimentados con dietas seleccionadas “ex profeso” por los progenitores, además, la posible especialización en la dieta de cada uno de los parentales se diluye al ser ambos progenitores los que alimentan a los pollos. Por estos motivos, y sobre todo en especies que tienden a reutilizar los nidos o zona de nidificación, este tipo de biomonitorización permite estudiar las diferencias en la exposición a contaminantes a lo largo de los años (⁷⁸Frank y Lutz, 1999).

Sin embargo, en este tipo de estudios, un pequeño inconveniente podría encontrarse en diferenciar las cantidades de contaminantes transferidos por la madre al huevo, pero es probable que se trate de una proporción insignificante puesto que la masa del huevo representa sólo un 2-8 % de la masa corporal en pollos desarrollados (²⁶Furness, 1993). No obstante, este sesgo se puede obviar eligiendo adecuadamente el tejido a investigar ya que las concentraciones de metales en sangre reflejarán principalmente la exposición local (⁷⁹Burger y Gochfeld, 1997) y reciente (⁸⁰Sanpera *et al.*, 2007, ²⁴García-Fernández, 2014; ^{16,81}García-Fernández *et al.*, 2008, 2011) y los contaminantes con los que nace el pollo se diluyen o desaparecen con el crecimiento de las plumas definitivas o con el desarrollo corporal (⁸²Monteiro *et al.*, 2001; ⁸³Fournier *et al.*, 2002; ⁸⁴Kenow *et al.*, 2007).

III.2.3. NATURALEZA DE LAS MUESTRAS EN ESTUDIOS DE BIOMONITORIZACIÓN CON ANIMALES Y BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN.

Así como el estudio de los niveles de contaminantes en tejidos y fluidos animales nos informa del grado de exposición, de absorción y de acumulación en los organismos vivos, el estudio de las respuestas biológicas a dichos contaminantes nos proporciona mayor información sobre los efectos toxicológicos de dicha exposición (⁸⁵Vanparys *et al.*, 2008). Este tipo de cambios en la fisiología de los animales se denominan biomarcadores o marcadores biológicos y son el resultado de una alteración inducida por un xenobiótico en los compartimentos celulares o en los procesos bioquímicos, estructuras o funciones medibles en un sistema biológico o parte del mismo (⁸⁶Goldstein *et al.*, 1987).

La medición directa de las concentraciones de un contaminante o sus metabolitos en cualquier tejido, fluido o excreta de cualquier organismo nos indica el grado de impregnación y permite establecer una hipótesis sobre el tipo y grado de exposición y sus posibles consecuencias para la salud (¹⁹García-Fernández y María-Mojica, 2000). No obstante, una misma concentración de contaminantes en el mismo tejido de animales diferentes no tiene por qué ser indicativa del mismo tipo de exposición (⁸⁷Moriarty, 1999), lo que nos indica la importancia del conocimiento de la cinética del compuesto



objeto de estudio y de la medición del mismo en los tejidos que participan en mayor grado de esa cinética (⁸⁸García-Fernández, 1994).

Cuando la obtención de muestras para el estudio puede hacerse de forma no cruenta a través de muestras como plumas, orina, sangre, heces, huevos, etc., o de tejidos mediante necropsia, los biomarcadores de exposición resultan idóneos para la monitorización. Las muestras no cruentas son, por tanto, la más apreciadas desde el punto de vista de la investigación ya que pueden ser utilizadas para múltiples determinaciones a lo largo del tiempo, lo que le da más valor si cabe al marcador por proporcionar más información y reducir la variabilidad (⁸⁹Peakall, 1992).

▪ Huevos

Los huevos se han utilizado de forma exitosa en la evaluación de la exposición a contaminantes persistentes en numerosos estudios (⁹⁰Donaldson *et al.*, 1999; ⁹¹Norstrom, 2002; ⁹²Martínez-López *et al.*, 2007; ⁹³Van den Steen *et al.*, 2009; ⁹⁴Morrissey *et al.*, 2010). Su importancia se debe a que las concentraciones de dichas sustancias en el huevo pueden ser un reflejo de las concentraciones presentes en los tejidos de los progenitores y en el medio ambiente inmediato (⁹⁵Hashmi, 2013), debido a que durante la época de puesta se produce una movilización de minerales y lípidos de la madre al huevo para formarlo. Otra ventaja es que los huevos, como unidad analítica, son fáciles de obtener, transportar, almacenar y conservar.

Diversos autores (⁷¹Gilbertson *et al.*, 1987; ⁹⁶Becker, 1989; ²⁶Furness, 1993 y ⁹⁷Becker *et al.*, 1998, ²⁹Espín *et al.*, 2016), han discutido las ventajas y desventajas de los huevos como unidad de biomonitorización. Entre las primeras están un alto contenido lipídico y por tanto una elevada acumulación de compuestos persistentes lipofílicos; una composición constante (nos informa de un año y un lugar concreto); refleja la contaminación de las hembras reproductoras que componen la parte sana y reproductora de la población; estando restringidos a una temporada de cría tienen una reducida variabilidad estacional en los niveles de contaminantes debido a que se limita a ese periodo de concreto; son sensibles a las reacciones de las aves durante la puesta y, en los primeros estadios del desarrollo del pollo, ante los contaminantes con relevantes efectos de embriotoxicidad y, por tanto, es viable la realización de estudios orientados hacia la relación de contaminantes, calidad de la cáscara y éxito reproductor.

Entre sus principales desventajas se encuentran, que en ciertas especies, por motivos legales y éticos, no se permite la recolección de huevos fértiles, lo cual puede limitar el número de muestras disponibles (⁹²Martínez-López *et al.*, 2007); solo reflejarían la exposición a contaminantes en una parte de la población (las hembras reproductoras), y



de un momento del año (la época de puesta), así como, la posible variación de los niveles de estos con la secuencia de puesta y la dificultad de algunos metales pesados para acumularse en el huevo (ej. cadmio y plomo).

³⁵Becker (2003), afirma que cuando se recogen huevos no viables, suelen ser huevos producidos por parejas inexpertas, aves no sanas o afectadas por sustancias tóxicas, por lo que las concentraciones de compuestos orgánicos persistentes que contienen pueden ser atípicas. Aunque otros autores afirman que los niveles de contaminantes encontrados en los huevos no eclosionados son similares a los que llegan a desarrollarse y eclosionar (²⁶Furness, 1993), es necesaria la realización de más estudios que aclaren este hecho.

Algunos estudios sugieren que los huevos pueden ser buenos indicadores de la presencia de mercurio en una zona. Por ejemplo, en un estudio realizado sobre 43 huevos de Gaviota de Audouin recogidos en las Islas Chafarinas, se comprobó que el mercurio hallado en el albumen de los huevos analizados se correlacionaba con el mercurio ingerido por la hembra mientras se alimentaba en las áreas de cría. De hecho también pudo constatarse que los huevos de gaviotas de las Islas Chafarinas tenían menor cantidad de mercurio que los del Delta del Ebro (⁹⁸Sanpera *et al.*, 2000).

▪ **Sangre**

Tanto sangre como plasma y suero sanguíneo han sido utilizados con éxito para la evaluación de la exposición a compuestos orgánicos persistentes y metales, tanto en la especie humana como en las aves, incluso utilizando volúmenes de muestra muy pequeños (^{99,100,101}García-Fernández *et al.*, 1995, 1996, 1997; ¹⁰²Rivera-Rodríguez *et al.*, 2007; ¹⁰³Jakszyn *et al.*, 2009, ¹⁰⁴Martínez-López *et al.*, 2009; ⁷⁵Gómez-Ramírez *et al.*, 2011). El estudio de este tipo de muestras en biomonitorización con aves supone una alternativa a los huevos u otros tipos de tejidos más críticos (¹⁰⁵Custer y Custer, 1995). Con muy poco esfuerzo y con el uso de este tipo de muestras obtenemos una imagen instantánea de los niveles de contaminantes que refleja, por un lado, la exposición a corto plazo (ingesta diaria inmediata) y, por el otro, fenómenos fisiológicos, como la movilización de reservas para producir huevos o durante la muda (²⁶Furness, 1993; ⁹⁹García-Fernández *et al.*, 1995; ¹⁰⁴Martínez-López *et al.*, 2009). Por tanto podemos decir que los niveles de metales en sangre son un reflejo de la absorción inmediata producida tras la ingestión del alimento consumido en menos de una semana antes de la toma de muestras, así como de la movilización desde tejidos internos (por ejemplo durante la migración) desapareciendo de esta a través de su eliminación por heces, plumas, huevos o acumulación en tejidos (¹⁰⁶Braune y Gaskin, 1987). En el caso de los pollos, la movilización



desde órganos internos es mínima debido al corto periodo de exposición, por lo que el aporte procede principalmente de la dieta (¹⁰⁷Burger y Gochfeld, 1995).

▪ Plumas

El uso de las plumas como instrumento de la investigación ha tenido gran importancia en diferentes campos de la ciencia. Así por ejemplo el estudio de isótopos estables en plumas proporcionan valiosa información sobre los hábitos alimenticios de las aves, su origen, sus patrones de migración, etc., (¹⁰⁸Hobson, 2005). También las plumas son fuente de información para estudios genéticos (¹⁰⁹Poulakakis *et al.*, 2008), y nos permiten evaluar los niveles de ciertos contaminantes (²⁷Burger, 1993; ¹¹⁰Jaspers *et al.*, 2011; ²⁴García-Fernández, 2014; ^{78,111} García-Fernández *et al.*, 2011, 2013; ²⁹Espín *et al.*, 2016).

La pluma ha sido muy utilizada como método de biomonitorización no cruento en la contaminación por metales pesados, demostrando que puede usarse como alternativa a los tejidos internos (²⁷Burger, 1993; ¹¹²Burgess *et al.*, 2005; ¹¹³Fasola *et al.*, 1998; ¹¹⁴Garitano-Zavala *et al.*, 2010; ¹¹⁵Hollamby *et al.*, 2004; ¹¹⁶Malik y Zeb, 2009; ¹¹⁷Martínez-López *et al.*, 2005; ¹¹⁸Zolfaghari *et al.*, 2007; ¹¹⁹Espín *et al.*, 2012). Al contrario que otros faneros también ricos en queratina, como pelo o uñas, la pluma no crece continuamente estando conectada al torrente circulatorio un cierto periodo de tiempo (³⁸Jaspers *et al.*, 2004). Por lo tanto, las plumas pueden contener información sobre las concentraciones de contaminantes circulantes en la sangre durante su desarrollo (¹²⁰Espín, 2013). La principal ventaja de la pluma como unidad de biomonitorización es que se puede obtener de forma no cruenta de cadáveres, de animales vivos o incluso del nido o suelo, aunque también cuenta con el inconveniente de que al tratarse de un recubrimiento externo del animal puede estar sometido a fenómenos de contaminación por impregnación o por deposición, principalmente atmosférica (¹¹¹García-Fernández *et al.*, 2013).

El acicalamiento con las secreciones de la glándula uropígea puede contribuir a esta contaminación externa (¹²⁰Espín, 2013; ¹¹¹García-Fernández *et al.*, 2013). Algunos factores intraespecíficos como la edad, sexo, condición corporal y tipo de pluma (¹²¹Furness *et al.*, 1986; ¹²²Dauwe *et al.*, 2005; ^{110,123}Jaspers *et al.*, 2007, 2011), e interespecíficos como la dieta y el comportamiento migratorio (¹¹⁸Zolfaghari *et al.*, 2007; ¹²⁴Behrooz *et al.*, 2009; ¹²⁵Rajaei *et al.*, 2011;), pueden afectar a las concentraciones de contaminantes en plumas.



III.3. EFECTOS DEL MUESTREO SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL.

La captura y el manejo durante su muestreo, puede desencadenar una respuesta aguda de estrés en las aves (¹²⁶Korte *et al.*, 1997). Mientras el agente estresante (inmovilización manual) permanece, la temperatura cutánea disminuye merced a la vasoconstricción periférica que se produce. Una vez el animal es liberado, el calor acumulado en su interior es disipado aumentando la temperatura periférica. Esta técnica puede ser utilizada para medir el grado de estrés de un ave debido al manejo (¹²⁷Herborn *et al.*, 2015). Por otro lado, la ausencia de los padres mientras se realizan trabajos científicos en una colonia de nidificación, expone a huevos y pollos a la irradiación solar directa o a otros fenómenos atmosféricos (viento, lluvia, etc.), que pueden suponer un estrés añadido en los animales (estrés térmico).

Las aves tienen una zona de termoneutralidad relativamente amplia, que oscila entre 10 y 25°C en animales adultos (¹²⁸Barragan, 1989). Se conoce con el nombre de zona neutral térmica aquellos límites de temperatura ambiente entre los cuales las aves llevan a cabo pequeños cambios en la producción calórica. Es también llamada zona de confort térmico (¹²⁹KPEEP, 2014).

En situaciones de estrés térmico, los principales mecanismos que se activan en el organismo del animal son radiación, convección y evaporación, toda vez que no poseen glándulas sudoríparas (¹³⁰Brossi *et al.*, 2009). El estrés térmico agudo, (denominado “golpe de calor”), es el que se produce ya sea por el mantenimiento prolongado de temperaturas medias de 30-32°C (algunas horas), o a temperaturas superiores a 32°C, que llegan incluso hasta 40°C en un momento determinado (¹³¹De Basilio y Cori, 2016).

A pesar de que las aves jóvenes responden mejor ante temperaturas cálidas (¹²⁹KPEEP, 2014), el tiempo que los científicos pasan en el interior de la colonia evita que los padres puedan proteger a los pollos de la exposición directa a la radiación solar, por lo que es importante conocer si la temperatura corporal de los animales aumenta conforme avanza el tiempo de intervención ya que, el exceso de calentamiento por dicha exposición podría impedir la disipación del calor corporal generado por el estrés de la captura.

III.4. CONTAMINANTES AMBIENTALES OBJETO DE ESTUDIO.

Los seres vivos nos vemos expuestos de forma continua a gran cantidad de contaminantes químicos que impregnan a todos los niveles el ecosistema. Por su amplia distribución, muchos de ellos son considerados contaminantes ambientales y pueden afectar negativamente a la salud de los organismos que lo habitan. Debido a las graves



afecciones que, sobre las poblaciones de aves silvestres, han tenido los compuestos organoclorados y los metales pesados, estos son los más estudiados en los programas de biomonitorización (¹³²Henny y Elliott, 2007).

III.4.1. METALES PESADOS.

Merced a la presencia de los metales pesados en todos los compartimentos ambientales, la exposición a estos puede producirse, incluso, en lugares considerados no contaminados, en donde los animales se encuentran expuestos a bajas concentraciones de forma crónica (³⁴Dauwe *et al.*, 2000; ¹³³Evers *et al.*, 2005; ¹¹⁷Martínez-López *et al.*, 2005; ¹³⁴Rizzo *et al.*, 2011; ⁷⁵Gómez-Ramírez, 2011; ¹³⁵Nava-Díaz *et al.*, 2015).

Como consecuencia de la capacidad de bioacumulación de estos contaminantes metálicos, los individuos en fase de crecimiento pueden llegar a manifestar efectos letales y subletales antes de alcanzar su desarrollo (^{107,136,137}Burger y Gochfeld, 1995, 1996, 1997; Baos *et al.*, 2006); y con ellos la imposibilidad de volar y alejarse de la zona de exposición (¹³⁸Henny *et al.*, 2002), por lo que el estudio de los contaminantes en este tipo de individuos nos provee, no solo de información sobre la posible influencia de los mismos sobre la salud de la colonia, sino también sobre los posibles efectos que se puedan estar produciendo sobre su éxito como contribuyente a la conservación y futuro de la especie. Por ejemplo, los niveles de mercurio presentes en los peces de muchas regiones de Norteamérica, son suficientes para afectar al éxito reproductivo y la salud de aves piscívoras como el Colimbo común (*Gavia immer*) (¹³⁹Champoux *et al.*, 2006). A diferencia de lo que sucede con los efectos letales que son fácilmente reconocibles y cuantificables en una colonia reproductiva, los efectos subletales han sido poco estudiados en este tipo de animales y por tanto son poco conocidos (¹⁴⁰Martínez-López *et al.*, 2004).

III.4.1.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS METALES.

Los metales son compuestos ubicuos que se encuentran de forma natural en el medio ambiente, ya que la mayoría de ellos forman parte de la corteza terrestre

Aunque muchos de estos metales son esenciales para la vida a bajas concentraciones, la mayoría de los organismos sufren alteraciones cuando se exponen a altas dosis de estos (¹⁴¹Duffus, 1983). La liberación de estos contaminantes al medio puede producirse de modo natural, como consecuencia de fenómenos geológicos normales. La desintegración y descomposición de las rocas, la lixiviación de suelos o las erupciones volcánicas pueden lograr que estos metales queden disponibles en la biosfera (¹⁴²Fyfe, 1998; ¹⁴³Garret, 2000). No obstante, las actividades humanas más o menos recientes, especialmente tras



la Revolución Industrial, han supuesto un aumento de la redistribución de los metales en los distintos compartimentos medioambientales (¹⁴²Fyfe, 1998), siendo el plomo y el zinc los metales de mayor emisión (¹⁴⁴Díaz-Mayans *et al.*, 1993).

A continuación se describen las principales características de los 5 metales que serán objeto de estudio en la presente tesis (tabla III.1).

Tabla III.1. Principales características de los metales objeto de estudio

Metal	ZINC	CADMIO	PLOMO	COBRE	MERCURIO
Grupo del Sistema Periódico	IIb	IIb	IVa	Ib	IIb
Símbolo	Zn	Cd	Pb	Cu	Hg
Número atómico	30	48	82	29	80
Peso atómico	65,38	112,4	207,2	63,55	200,59
Punto de fusión (°C)	419,5	321	327,4	1083	-38,9
Punto de ebullición (°C)	906	765	1725	2595	356,58
Aspecto y características	Azul pálido grisáceo, sólido a temperatura ambiente	Plateado gris metálico, sólido a temperatura ambiente	Blanco de plata, brillante, sólido a temperatura ambiente	Metálico rojizo, sólido a temperatura ambiente	Plateado, líquido a temperatura ambiente
Interés fisiológico	Esencial. Cofactor e integrante de numerosas enzimas.	No esencial	No esencial	Esencial. Interviene en producción energética. Forma parte de diversas enzimas.	No esencial

Desde el punto de vista toxicológico y de salud pública, el cadmio y el plomo, junto con el mercurio, son los metales más peligrosos (¹¹Scheuhammer, 1987; ¹⁹García-Fernández y María-Mojica, 2000). De hecho, Pb, Cd, Hg y Zn se encuentran dentro de la lista de los 129 contaminantes prioritarios de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de Estados Unidos (¹⁴⁵US EPA, 2014). Por el contrario, las aves son en general resistentes a la intoxicación por zinc y cobre, aunque la exposición a altas concentraciones que excedan los mecanismos de regulación puede dar lugar a efectos adversos (^{146,147}Eisler 1993, 1998).

➤ ZINC Y COBRE

El zinc y el cobre son elementos traza esenciales para los vertebrados superiores. Ambos elementos son esenciales para la actividad de numerosas enzimas y funciones fisiológicas. También cumplen la función de regular la expresión de numerosos genes (¹⁴⁸Cousins y



Hempe, 1990; ¹⁴⁹O'Dell, 1990; ¹⁵⁰Pombo *et al.*, 2001; ¹⁵¹Cousins *et al.*, 2003). El zinc además participa en el mantenimiento de la integridad estructural de ciertas proteínas y las membranas celulares (¹⁵²Nöel-Lambot, 1976; ¹⁵⁰Pombo *et al.*, 2001; ¹⁵³Feliu *et al.*, 2005). Ambos elementos se encuentran en todos los tejidos y fluidos corporales. La mayor parte del zinc en el organismo se encuentra en músculos y huesos estando el cobre más presente en el encéfalo e hígado (¹⁵⁴Cartwright y Wintrobe, 1964; ¹⁵⁵Cousins, 1985; ¹⁵⁶King *et al.*, 2000; ¹⁵⁰Pombo *et al.*, 2001).

En la naturaleza, el zinc es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre. Se conocen más de 50 minerales distintos de cuya composición entra a formar parte. No se suele encontrar de forma libre debido a su gran reactividad. Su presencia como contaminante en la naturaleza se debe principalmente a la actividad humana (¹⁴⁴Díaz-Mayans *et al.*, 1993). Se emplea en industrias de galvanizado y está presente en aleaciones: latón, bronce, alpaca, cuproníquel-zinc, aluzinc, virenium, tombac, etc. También se encuentra en pilas, fusibles, funguicidas y materiales de construcción. Es empleado también en la industria metalúrgica de metales preciosos y eliminación de la plata del plomo. También lo encontramos en piezas de fundición inyectada en industrias de automoción. En cosmética se utiliza como pigmento o aditivo antiséptico.

En aguas dulces (ríos y lagos), la concentración de zinc, oscila entre 0,86 y 200 µg/L y entre 0,01 y 0,62 µg/L para agua de mar, mientras que oscila entre 0,1 y 1,7 µg/L en partículas aéreas (¹⁵⁷Pinto, 2008).

El cobre es uno de los metales traza más abundantes (¹⁴¹Duffus, 1983). Es un micronutriente esencial para la mayoría de los seres vivos. Muy relacionado con la síntesis de hemoglobina, su carencia produce una patología denominada anemia microcítica hipocrómica (¹⁵⁸Castillo *et al.*, 1982; ¹⁵⁰Pombo *et al.*, 2001; ¹⁵⁹Menéndez *et al.*, 2007)

La existencia del cobre como contaminante en la naturaleza está relacionada con la fabricación de material eléctrico, tuberías y maquinaria. Otras procedencias son incendios forestales, fundiciones, actividades extractivas y de minería, refinerías, acererías, aguas residuales industriales y urbanas, aplicación de fertilizantes y en lodos de depuradoras. Como fitosanitario se emplea como fungicida y molusquicida. También se encuentra de forma apreciable en purines de cerdo ya que es añadido a su alimentación como promotor de crecimiento. Con las nuevas tecnologías se ha extendido el uso del cobre formando nanopartículas (Nano-CuO) cuyo uso industrial en sensores de gas, recubrimientos antimicrobianos, y células fotovoltaicas se está generalizando. (¹⁶⁰Pang *et al.*, 2013).



El cobre, en el interior del organismo de los seres vivos, al contrario de lo que ocurre con el zinc, presenta propiedades redox por lo que es capaz de generar radicales libres.

▪ Toxicocinética

La absorción del zinc procedente de la dieta oscila normalmente entre un 20-30% (¹⁶¹Goyer, 1996). El aumento en la absorción se ha asociado a bajo peso corporal, déficit de zinc y presencia de determinadas prostaglandinas, mientras que una menor absorción está asociada a un exceso de calcio en la dieta o déficit de piridoxina o triptófano (¹⁶²Goyer, 1996; ¹⁶³Goyer y Clarkson, 2001). Una vez absorbido, el Zn se une principalmente a la albúmina en plasma (¹⁶⁴Sternlieb, 1988) y es transportado a hígado, páncreas, riñón, bazo y músculo (¹⁶⁵Cao *et al.*, 2002). El hígado es el órgano que presenta mayores concentraciones de zinc en intoxicaciones agudas siendo el tejido óseo su órgano diana en exposiciones crónicas. El Zn es excretado principalmente a través de las heces (¹⁶⁶Gad, 2005).

En el caso del cobre, la inhalación o la absorción cutánea son las vías más probables de incorporación de altos niveles en el organismo, ya que permiten el paso sin barreras al torrente sanguíneo (¹⁶⁷ASTDR, 2004). La absorción gastrointestinal está regulada normalmente por las reservas corporales (¹⁶⁸Sarkar *et al.*, 1983). El cobre, cuando ingresa en el organismo vía digestiva, es absorbido por el tracto gastrointestinal como cobre iónico o unido aminoácidos. Una vez atraviesa la mucosa digestiva se une a metalotioneínas y a otras proteínas intestinales (¹⁶⁹Evans y LeBlanc, 1976). El cobre unido a metalotioneínas puede ser lentamente liberado al torrente circulatorio (¹⁷⁰Marceau, 1970) o es excretado cuando la mucosa intestinal es renovada. El cobre absorbido se transporta en el torrente sanguíneo unido a albúminas y ceruloplasminas y se almacena principalmente en hígado y médula ósea, posiblemente unido a metalotioneínas, aunque no es tan buen inductor de estas como el cadmio o el zinc (¹⁶¹Goyer, 1996). También se almacena en encéfalo, corazón, riñón y músculo. Estudios realizados en humanos y animales evidencian cambios relacionados con la absorción de cobre dependientes de la edad. ¹⁷¹Varada *et al.* (1993) encontraron que la absorción de cobre era lineal y no saturable entre los 16 y los 20 días de edad en ratas.

Finalmente, la mayor parte del Cu acumulado en hígado es excretado por vía biliar (aproximadamente un 80%) (¹⁷²Valko *et al.*, 2005).

➤ CADMIO, PLOMO Y MERCURIO

A pesar de que metales como el Cd, Pb y Hg, están presentes de forma natural en la corteza terrestre, gran parte de las emisiones provienen de actividades antrópicas (¹⁷³⁻



¹⁷⁵Gad, 2005; ¹⁶¹Goyer, 1996; ¹⁶³ Goyer y Clarkson, 2001). Estos metales pueden ser emitidos al medio a través de actividades mineras y operaciones de fundición y refinación de metales, quema de combustibles fósiles, incineración de residuos; y fabricación y uso de insecticidas, herbicidas y fungicidas que los contengan (¹⁷³⁻¹⁷⁵Gad, 2005, 2014; ¹⁶¹Goyer, 1996; ¹⁶³Goyer y Clarkson, 2001).

El cadmio es utilizado en el tratamiento de los metales para evitar la corrosión (galvanizado), forma parte de la composición de pinturas y plásticos, en cátodos de baterías, y es un subproducto de la minería en la obtención de zinc, plomo y cobre. El hecho de que el cadmio, junto al mercurio, sea uno de los responsables de la contaminación de ecosistemas acuáticos (¹⁴⁴Díaz Mayans *et al.*, 1993; ¹⁷⁶Sharif *et al.*, 1993; ⁸⁸García-Fernández, 1994), hace que este metal pueda ser acumulado en peces e invertebrados acuáticos, favorecido además por la capacidad de éstos de acumular dicho metal (¹⁷⁷Kraak *et al.*, 1991; ²⁶Furness y Greenwood, 1993). Las aves que dependen de estos ecosistemas acuáticos se ven expuestas a la ingestión de cadmio de forma crónica, el cual termina acumulado en sus tejidos internos (hígado y, principalmente, riñón) (¹¹Scheuhammer, 1987; ⁸⁸García-Fernández, 1994). En Murcia, ⁹⁹García-Fernández *et al.* (1995) observaron que las especies piscívoras concentran mayor cantidad de cadmio en todos los tejidos que las carnívoras e incluso que las carroñeras y omnívoras.

Una de las principales fuentes de emisión de plomo ha sido el uso de gasolina con Pb como antidetonante (¹⁷⁴Gad, 2005), la cual fue prohibida en España el 1 de agosto de 2001 por transposición de la Directiva 98/70/CE mediante el Real Decreto 785/2001 (¹⁷⁸DO L 350, 1998; ¹⁷⁹B.O.E. nº 162, 2001) con lo que las emisiones de Pb a la atmósfera por esta causa han decrecido drásticamente en los últimos años (¹⁸⁰Orío *et al.*, 2013). Otra fuente de contaminación son los restos de munición plomada en campos y zonas húmedas derivadas de la actividad cinegética (¹⁸¹García-Fernández *et al.*, 2005; ¹⁸²Mateo, 2009). Esta se considera la fuente más importante de exposición en aves y muchos autores la han considerado como una de las causas que contribuyen al descenso de sus poblaciones en todo el mundo (¹⁸³Pattee y Hennes, 1983; ¹⁸⁴Feierabend y Myers, 1984; ¹⁸⁵Cade, 2007; ¹⁸⁶Johnson *et al.*, 2013).

La minería y la combustión del carbón han incrementado la movilización de mercurio hacia el medio ambiente aumentando sus concentraciones en la atmósfera, los suelos, las aguas dulces y en el medio marino. Además las fundiciones minerales, el refinado de petróleo, la producción de cemento y la creciente demanda de oro han colaborado con este aumento. A esto hay que sumar la mala gestión de ciertos residuos de uso cotidiano como pilas, termómetros, tubos fluorescentes y bombillas de bajo consumo, pesticidas, fungicidas, medicinas y cosméticos (¹⁸⁷UNEP, 2013). Las emisiones de industrias como la



de pulpa de papel y plantas de cloro-álcali también han sido importantes fuentes antrópicas de Hg (¹⁷⁵Gad, 2005; ¹⁶¹Goyer, 1996).

Las medidas legislativas adoptadas en la mayor parte de los países industrializados para el control de las emisiones de contaminantes, así como, los programas de control de emisiones, ha sido un paso importante para contribuir a la disminución de contaminantes en el medio ambiente. En nuestro país medidas como el Real Decreto 106/2008, de 1 de febrero (¹⁸⁸B.O.E. nº 37, 2008), sobre pilas y acumuladores y la gestión ambiental de sus residuos, que restringe el uso de cadmio y mercurio en la fabricación de las mismas e impone normas para la adecuada gestión de estas como residuos, o el Real Decreto 1383/2002, de 20 de diciembre (¹⁸⁹B.O.E. nº 3, 2003), sobre gestión de vehículos al final de su vida útil que prohíbe el uso de plomo, cadmio y mercurio en materiales y componentes de vehículos son dos ejemplos de una nueva política de prevención de la contaminación ambiental. Los estudios de biomonitorización, en la actualidad, siguen siendo un instrumento útil para comprobar la efectividad de las medidas impuestas. Así, diversos estudios llevados a cabo en la Región de Murcia (^{99,101}García-Fernández *et al.*, 1995, 1997, ¹⁶García-Fernández *et al.*, 2008; ⁷⁵Gómez-Ramírez *et al.*, 2011), han puesto de manifiesto que la exposición a Pb en aves rapaces ha descendido de forma considerable en los últimos años .

▪ Toxicocinética

Diferentes parámetros afectan a cinética del **cadmio** en el organismo de las aves: la edad, el sexo, la forma química ingerida, los hábitos alimenticios, el estado nutricional, la época del año, la localización geográfica y la posición en la cadena trófica (¹⁰⁰García-Fernández *et al.*, 1996; ¹⁹⁰Burger *et al.*, 2004; ²⁴García-Fernández, 2014). La absorción vía respiratoria (¹⁶¹Goyer, 1996; ¹⁷³Gad, 2005) es más eficiente que la digestiva (¹¹Scheuhammer, 1987; ¹⁷³Gad, 2005), lo cual puede deberse a que, sobre todo ante bajas concentraciones, la mayor parte del cadmio ingerido se queda retenido en las vellosidades intestinales (¹⁹¹Phillpotts, 1979; ¹⁹²Schümann *et al.*, 1990). Conforme aumenta la exposición, el porcentaje de cadmio retenido disminuye y aumenta la absorción (¹¹Scheuhammer, 1987). No obstante, a pesar de su limitada absorción digestiva, la mayor parte del cadmio acumulado en aves procede de los alimentos que consumen (¹⁹³Cain *et al.*, 1983; ⁹⁹García-Fernández *et al.*, 1995; ²⁴García-Fernández, 2014).

El **plomo** en aves, se comporta según un modelo tricompartmental, en donde la sangre es el primer compartimento y donde los tejidos blandos (el hígado y riñones) son el segundo de los tres compartimentos, al igual que sucede en hombre y otros mamíferos (⁸⁸García-Fernández, 1994; ¹⁹⁴Mautino, 1997). Se absorbe muy rápidamente vía digestiva



(¹⁹⁵Pain y Rattner, 1988) aunque no lo hace de manera muy efectiva ya que solo pasa al torrente circulatorio el 10% del plomo ingerido (¹⁶¹Goyer, 1996). La vía respiratoria es mucho más efectiva (¹⁷⁴Gad, 2005) y aunque ambas vías son las principales en vertebrados terrestres (¹⁶¹Goyer, 1996), posiblemente la vía respiratoria sea menos frecuente en aves (¹⁸³Pattee y Hennes, 1983; ¹⁸⁴Feierabend y Myers, 1984; ¹⁸⁵Cade, 2007; ¹⁸⁶Johnson *et al.*, 2013). Una vez absorbido, la mayor parte del plomo en el torrente sanguíneo se asocia a los eritrocitos, principalmente unido a la hemoglobina (¹⁹⁶Clemens *et al.*, 1975; ¹⁹⁷Lumeij, 1985). En su distribución, primero a hígado, después a riñón y otros tejidos blandos, los niveles de plomo en sangre disminuyen progresivamente como consecuencia de su acumulación en tejido óseo que es el tejido diana y se considera el tercer compartimento (¹⁹⁴Mautino, 1997) y tejido acumulador por excelencia (⁸⁸García-Fernández, 1994). No obstante, el grado de acumulación de plomo en aves puede estar determinado por la edad, el sexo y los hábitos alimenticios (^{88,24}García-Fernández, 1994,2014).

La eliminación del plomo del organismo se realiza vía fecal principalmente (¹⁹⁸Tsuchiya, 1986), eliminándose a mayor velocidad el plomo presente en tejidos blandos que el acumulado en hueso (¹⁹⁹Franson y Pain, 2011). A pesar de que este metal puede transferirse a los huevos, varios autores han sugerido que lo hace en baja proporción (²⁶Furness, 1993). También durante el crecimiento de la pluma se produce transferencia de plomo circulante y hepático (²⁰⁰Honda *et al.*, 1986; ¹⁴⁰Martínez-López *et al.*, 2004). En ciertas aves como las rapaces y aves acuáticas, la formación de egagrópilas permite la eliminación de plomo acumulado en sus presas en forma de munición o depositado en sus huesos y plumas. Algunos autores aseguran que esto podría suponer un importante mecanismo de protección frente a la exposición (²⁰¹Redig y Arent, 2008).

La absorción de **mercurio** varía considerablemente dependiendo de la forma del compuesto (¹⁷⁵Gad, 2005). Así, a temperatura ambiente, el Hg metálico o elemental se volatiliza en forma de vapores de Hg (¹⁶¹Goyer, 1996), siendo la absorción inhalatoria de un 75% y la digestiva prácticamente nula (¹⁷⁵Gad, 2005). El vapor de mercurio es no polar (no se disuelve en la membrana mucosa del tracto nasofaríngeo y traqueobronquial) y fácilmente penetra la membrana alveolar y pasa a la sangre absorbiéndose un 80% de la cantidad inhalada (²⁰²Español, 2001). La absorción por la vía digestiva de los compuestos inorgánicos de mercurio (insolubles) es del 7% con valores comprendidos entre el 2% y el 15% dependiendo de la solubilidad del compuesto ingerido (²⁰²Español, 2001). La absorción del metilmercurio ingerido, la forma de presentación más frecuente en los ecosistemas naturales, es del 90-95% (¹⁶¹Goyer, 1996). En aves como el Colimbo grande (*Gavia immer*) se ha comprobado que el 83% del MeHg ingerido es absorbido



(⁸³Fournier *et al.*, 2002) y rápidamente distribuido a los diferentes tejidos (¹³³Evers *et al.*, 2005).

Una vez absorbido la mayor parte del Hg presente en la sangre se encuentra unido a la albúmina u otras proteínas plasmáticas (¹⁷²Valko *et al.*, 2005). El mercurio vaporizado, dada su liposolubilidad, tiene afinidad por los eritrocitos y el sistema nervioso central (¹⁶¹Goyer, 1996), mientras que el Hg en forma de sales inorgánicas se distribuye y acumula principalmente en los riñones tanto en mamíferos como en aves (¹¹Scheuhammer, 1987) unido a metalotioneínas (²⁰³Piotrowski *et al.*, 1974). La liposolubilidad del metil mercurio hace que tenga mayor afinidad por el tejido adiposo y por los fosfolípidos del encéfalo (¹⁷⁵Gad, 2005), presentando una vida media en aves de entre 2 y 3 meses, mientras que otros compuestos organomercuriales se descomponen rápidamente *in vivo* a Hg inorgánico (entre 1 y 2 semanas) (¹¹Scheuhammer, 1987). Se ha observado en aves marinas (*Alca torda*) una mayor afinidad de este contaminante por ciertos tejidos, pudiendo ordenar dicha afinidad en orden decreciente como hígado>barbas de las plumas>riñón>músculo>encéfalo>raquis de la pluma (²⁸Espín *et al.*, 2012).

La excreción del mercurio se produce a través de las heces y la orina (¹⁶¹Goyer, 1996). Las plumas en formación también son una vía de excreción importante en las aves (²⁰⁴Burger, 1993; ²⁸Espín *et al.*, 2012).

III.4.1.2 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TOXICIDAD DE LOS METALES PESADOS EN AVES.

Existen multitud de factores intraespecíficos, interespecíficos y ambientales que pueden condicionar la toxicidad de los metales en las aves (²⁰⁵Finley y Dieter, 1978; ²⁰⁶Custer *et al.*, 1984; ²⁰⁷Hoffman *et al.*, 1985b; ⁹⁹García-Fernández *et al.*, 1995; ^{204,208}Burger 2002, 2008).

▪ Factores interespecíficos

En un estudio experimental en el que se expuso a diferentes concentraciones de plomo en la dieta a Tordo sargento (*Agelaius phoeniceus*), Tordo negro (*Molothrus ater*), Zanate norteño (*Quiscalus quiscula*), Ánade azulón (*Anas platyrhynchos*), Colín de Virginia (*Colinus virginianus*) y Autillo yanqui (*Megascops asio*), se comprobó como el grado de intoxicación por este metal varió entre especies y entre individuos dentro de la misma especie, siendo una combinación de factores (anemia, inhibición de la delta-ALAD, emaciación, competición con el hierro, etc.), la que lo producía (²⁰⁹Beyer *et al.*, 1988).

Otros autores han comprobado como los pollos de las especies altriciales como el



Cernícalo americano (*Falco sparverius*), son más sensibles a la exposición a plomo que los de Anades azulones o Faisanes (*Phasianus colchicus*) (²¹⁰Hoffman *et al.*, 1985). Sin embargo, las hembras de especies altriciales suelen tener menos mercurio en su organismo que las de especies precociales tras la puesta, ya que sus huevos contienen mayor cantidad de albumen y por ello se deshacen de mayor cantidad de metil-Hg debido a esta (²¹¹Robinson *et al.*, 2012). También se ha comprobado como el Buitre leonado puede presentar mayores concentraciones de plomo en sangre que otras especies de rapaces, incluidas las necrófagas (²¹²Redig *et al.*, 1991; ²¹³Carpenter *et al.*, 2003; ^{16,214}García-Fernández *et al.*, 2005, 2008).

En estudios *in vitro* en los que se exponía a cadmio y plomo a eritrocitos de diferentes especies de aves se observó que en el Búho real la acumulación de estos metales era mayor que en Ánade azulón o en Busardo ratonero (*Buteo buteo*), siendo esta última especie la que menor cantidad de cadmio acumulaba al ser más sensible a sus efectos lo que provocaba fenómenos de degeneración celular y apoptosis mucho antes (²¹⁵Hernández-García, 2010).

▪ Factores intraespecíficos

Se ha podido comprobar, en diferentes especies de aves, diferencias en la concentración de contaminantes en los tejidos dependiendo del sexo. De hecho en algunos casos, los machos suelen tener mayores concentraciones que las hembras (²¹⁶Wiener *et al.*, 1996). En principio esto podía estar motivado por la depleción de contaminantes que realiza la hembra en la puesta de huevos (²¹¹Robinson, *et al.*, 2012), que será mayor cuanto mayor número de huevos ponga esta, aunque en un estudio realizado sobre el mercurio en Cormoranes orejudos (*Phalacrocorax auritus*) se argumentó que podría deberse a que las hembras consumen peces de menor tamaño y además tienen una mayor capacidad de dimetilación (²¹⁷Lavoie, 2014). También en distintas especies de aves, son los machos los que acumulan mayores niveles de cadmio, cobre y zinc (²¹⁸Gochfeld y Burger, 1987; ²¹⁹Debacker *et al.*, 2001; ²²⁰Barjaktarovic *et al.*, 2002). Sin embargo, en el caso del plomo, se ha observado, en diversas especies de aves, que los niveles en hembras son mayores que en machos. Esto puede ser debido a que durante la formación de la cáscara de huevo, el incremento en la demanda de calcio induce una mayor absorción intestinal de plomo asociada a la movilización del calcio óseo y de la existencia de una absorción común para ambos elementos (²⁰⁵Finley y Dieter, 1978; ²²¹Pattee, 1984).

La edad puede tener también influencia sobre la cantidad de metales que puedan encontrarse en el organismo. Así, los pollos tienen una gran capacidad de eliminar metales como el mercurio, el cual es eliminado a través de la pluma mientras esta se está



formando (²⁰⁰Honda, 1986), lo que los haría menos sensibles a elevados niveles de exposición de este metal (⁸³Fournier *et al.*, 2002). También se ha visto en gaviotas que los niveles de cadmio, plomo y cromo aumentan con la edad, mientras que los de mercurio y selenio disminuyen (²²²Gotchfeld *et al.*, 1996). También, los individuos jóvenes parecen, en general, más sensibles a los efectos del cadmio y plomo que los adultos de la misma especie (^{207,210}Hoffman *et al.*, 1985; ¹¹Scheuhammer, 1987).

La alimentación también juega un papel importante ya que no solo la disponibilidad de recursos alimenticios puede influir sobre la toxicidad de los contaminantes sino también el tipo de alimentación (²²³Pain y Amiard-Triquet, 1993; ⁹⁹García-Fernández *et al.*, 1995). Así, se ha comprobado que la caquexia unida a la falta de alimento influye claramente en los niveles de Zn y Cu encontrados en Araos (*Uria algae*). Al parecer esto se debe a una removilización general de los metales pesados como resultado del catabolismo de las proteínas que se encuentran unidas a ellos (²²⁴Debacker *et al.*, 2000).

La mayor afinidad que presenta el cobre por los grupos sulfidrilo (-SH) de las metalotioneínas hace que en dietas ricas en cobre, este pueda desplazar al zinc siendo eliminado más fácilmente (²¹⁹Debacker *et al.*, 2001). En organismos superiores, el zinc es un antagonista del cobre y potencia los efectos de la deficiencia nutricional de cobre en ratas y pollitos (¹⁴⁷Eisler, 1987). El zinc añadido a un medio acuático, disminuye la acumulación de cobre en los tejidos de peces y el cobre añadido al mismo medio dificulta la absorción del zinc (²²⁵Hilmy *et al.*, 1987).

La mayoría de los efectos histopatológicos observados en aves intoxicadas por cadmio son muy similares a los causados por un déficit de hierro (anemia, hiperplasia de médula ósea, hipertrofia cardíaca) o de zinc (hipoplasia testicular) ya que la exposición crónica a cadmio en la dieta provoca alteraciones en el metabolismo del hierro, zinc y calcio (²²⁶Freeland y Cousins, 1973; ¹¹Scheuhammer, 1987). Igualmente se ha observado que determinadas deficiencias nutricionales como dietas bajas en calcio, favorecen la absorción y acumulación de plomo y cadmio en aves (²²⁷Scheuhammer, 1996). Autores como ²²⁸Longcore *et al.* (1974), ²²⁹Koranda *et al.* (1979) y ²³⁰Stendell *et al.* (1979) opinan que dietas ricas en calcio, fósforo y proteína paliar los efectos del plomo, mientras que la escasez de alimentos los exacerba.

En cuanto al hábitat, se ha comprobado aves que habitan territorios dedicados a la caza, tienen mayor probabilidad de intoxicarse por la ingesta de perdigones. En el caso de las aves rapaces, tanto los perdigones como los fragmentos de bala con cabeza de plomo, pueden ser ingeridos si están incrustados en el tejido muscular u óseo de sus presas (²³¹Mateo *et al.*, 1999; ²³²García-Fernández *et al.*, 2005; ¹⁸²Mateo, 2009).



En especies migradoras se ha comprobado que las concentraciones de mercurio están determinadas, no solo por los niveles en sus lugares de reproducción, sino también por los de los lugares de invernada, transportando dichos contaminantes (²¹⁷Lavoie *et al.*, 2014). También se ha observado una mayor exposición a mercurio de los animales que viven en lagunas salinas, acumulando los peces albergados en ellas mayor concentración de mercurio que aquellos que viven en aguas abiertas o estuarios (²³³Eagles-Smith y Ackerman, 2014). De hecho, se ha observado que las concentraciones de mercurio en sangre de Gaviotas californianas (*Larus californicus*) adultas capturadas durante la época de puesta en una laguna salada contaminada por actividades urbanas e industriales en Norteamérica, eran de 65 µg/dl frente a los 26 µg/dl encontrados en la misma especie que anidaba en un lago alejado de ese tipo de actividades (²³⁴Conover *et al.*, 2009).

También las fuentes de contaminación local pueden determinar diferentes grados de exposición como se ha comprobado en diferentes estudios y especies en la región de Murcia (⁹⁹García-Fernández *et al.*, 1995; ⁷⁵Gómez-Ramírez *et al.*, 2011; ²³⁵Espín *et al.*, 2014). La proximidad a fundiciones o refinerías, plantas de reciclaje de baterías, industrias, plantas incineradoras o zonas mineras aumenta también la susceptibilidad de intoxicación por metales pesados (¹⁴⁷Eisler, 1987; ²³⁶Blanco *et al.*, 2003). Además se ha observado que las concentraciones de cadmio son superiores en aves silvestres que frecuentan o habitan zonas urbanas o industrializadas (²³⁷Hutton y Goodman, 1980; ⁹⁹García-Fernández *et al.*, 1995).

▪ Factores ambientales

En cuanto al clima se ha observado que aves expuestas a plomo en climas fríos mostraron mayor sensibilidad y mortalidad que las expuestas en ambientes templados (²³⁸Kendall y Scanlon, 1984; ²³⁹Buerger *et al.*, 1986). El mecanismo por el que se produce este efecto es desconocido pero se sugiere que puede ser por la acción combinada de diferentes factores estresantes (²⁴⁰Selye, 1973), el efecto tóxico del plomo sobre el metabolismo general del ave que disminuye su capacidad para resistir al frío, o la acción sinérgica de todo en su conjunto (²⁴¹Kendall *et al.*, 1996).

También las lluvias pueden transportar los contaminantes lejos de las zonas en las que se produjeron arrastrándolos hacia otras en donde pueden aumentar su biodisponibilidad, bien por acción de los microorganismos o simplemente por la mayor concentración de animales ligados a estos medios, como ocurre en las zonas húmedas que reciben aportes a través de ríos y ramblas en zonas en donde las lluvias suelen ser torrenciales (²⁴²Martínez, 2007; ²⁴³García y Muñoz-Vera, 2015).



III.4.1.3 EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR METALES EN LAS AVES.

La exposición a contaminación ambiental por metales pesados en las aves puede desencadenar alteraciones metabólicas lo suficientemente intensas que desencadenen la muerte de los animales (exposición aguda). En otras ocasiones, son niveles subletales de contaminantes los que son capaces de provocar alteraciones difíciles de apreciar por una observación eventual. La mayoría de dichas alteraciones son detectadas en los programas de monitorización.

▪ Alteraciones bioquímicas

Los metales son importantes inhibidores de enzimas que desempeñan papeles importantes a nivel fisiológico. Tanto el Cd como el Pb interfieren en la actividad de varias enzimas, a menudo por competencia con otros elementos esenciales como el Zn o el Ca (²⁴⁴Eisler, 1985; ²⁴⁵Godwin, 2001). Así, el plomo es un potente inhibidor de enzimas que intervienen en la formación del grupo hemo en los eritrocitos (δ -ALAD, coproporfirinógeno oxidasa, hemo-sintetasa, ferroquelatasa). Por ejemplo, una inhibición del 45-59% de la actividad de δ -ALAD es capaz de producir anemia en pollos de Cernícalo americano (²⁰⁷Hoffman *et al.*, 1985; ²⁴⁶Henny *et al.*, 1994). Esta inhibición provoca una acumulación del sustrato, el ácido aminolevulínico (ALA) y estimula la producción de especies reactivas de oxígeno (Bechara, 1996) produciéndose peroxidación de las membranas de los eritrocitos con la consecuente hemólisis (Lawton y Donaldson, 1991). Diversos estudios han encontrado correlaciones significativas entre los niveles de Pb y la actividad enzimática de la δ -ALAD en aves silvestres (¹⁴⁰Martínez-López *et al.*, 2004; ⁷⁵Gómez-Ramírez *et al.*, 2011; ²⁴⁷Martínez-Haro *et al.*, 2011; ²⁴⁸Espín *et al.*, 2015). No obstante otros autores han encontrado un aumento del hematocrito conforme aumenta la inhibición de la δ -ALAD en dos especies de aves rapaces (*Gyps fulvus* y *Bubo bubo*) (²⁴⁸Espín *et al.*, 2015). Estos autores achacan el hecho a una respuesta compensatoria a la inhibición de esta enzima.

Se ha detectado un aumento de enzimas antioxidantes en aves marinas relacionadas con la exposición a metales pesados. Así variaciones en los niveles de glutatión (GSH), , superóxido dismutasa (SOD) y glutatión S-transferasa (GST) han demostrado ser, juntos o combinados, mecanismos de respuesta efectivos frente a la oxidación a nivel celular por la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en aves marinas como la gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*) y la Gaviota picofina (*Chroicocephalus genei*) (²⁴⁹Espín *et al.*, 2016).

Otras alteraciones de parámetros bioquímicos por exposición a plomo y cadmio son la disminución de la actividad fosfatasa alcalina (²⁵⁰Rozman *et al.*, 1974; ²⁵¹Kertész y Hlubik,



2002; ²⁵²Mateo *et al.*, 2003a) y el aumento de la actividad alanina aminotrasferasa (²⁵⁰Rozman *et al.*, 1974; ²⁵³Hoffman *et al.*, 1981; ¹⁹³Cain *et al.*, 1983). Por otro lado la exposición a plomo se ha relacionado con un aumento de la glucosa, el colesterol y la creatinquinasa en suero (²⁵³Hoffman *et al.*, 1981; ²⁵²Mateo *et al.*, 2003).

El metilmercurio afecta a diversos parámetros bioquímicos, reduciendo las concentraciones de ácido úrico, albúmina, fósforo inorgánico y proteínas totales en plasma; aumentando la actividad de la enzima aspartato aminotransferasa; e inhibiendo la actividad de la lactato deshidrogenasa en Garzas blancas (*Ardea alba*) (²⁵⁴Hoffman *et al.*, 2005).

Las metalotioneínas son unas proteínas ricas en cisteína que se unen a los metales tanto esenciales como no esenciales a través de sus grupos tiol (-SH). (²⁵⁵Cherian y Goyer, 1978) con un peso molecular de 10000-12000 Da en aves. La síntesis de esta proteína es inducida cuando los niveles de metales en el organismo alcanzan cierto nivel. Por eso se han propuesto como biomarcadores de exposición a metales, aunque estudios recientes indican que también son inducibles por elementos no tóxicos como los glucocorticoides (²⁵⁶Gil y Pla, 2001). La función biológica de estas proteínas no está definida, pero al parecer participan en el normal almacenamiento de zinc y cobre y en la detoxificación y almacenamiento de metales no esenciales como el cadmio o el mercurio (¹¹Scheuhammer, 1987). El Zn es un potente inductor de metalotioneínas (¹⁶⁶Gad, 2005e).

▪ Alteraciones histopatológicas

Beyer *et al.* (1988) observó como en Tordo sargento, Tordo negro, Zanate norteño, Ánade azulón, Colín de Virginia y Autillo yanqui, alimentados con diferentes cantidades de plomo, la intoxicación se manifestaba con lesiones cardíacas, renales o hematológicas. El plomo afecta al riñón, principalmente provocando nefrosis y aparición de cuerpos de inclusión intranucleares (²⁵⁷Locke *et al.*, 1966; ²⁵⁸Pattee *et al.*, 1981; ²⁰⁹Beyer *et al.*, 1988). Este metal produce también necrosis miocárdica y necrosis fibrinoide arterial (²⁵⁸Pattee *et al.*, 1981).

En estudios experimentales que utilizaron eritrocitos de Ánade real se observó que tanto el plomo como el cadmio son capaces de inducir la muerte programada de este tipo de células (²⁵⁹Romero *et al.*, 2009).

²⁶⁰Scoville *et al.* (2013) encontraron anomalías en la migración de la capa granulosa externa del cerebelo y la membrana de Purkinje en un Gorrión coligado (*Ammodramus caudacutus*) que había muerto accidentalmente y que presentaba altos niveles de mercurio en plumas. En Garceta blanca se ha observado vacuolización de los hepatocitos,



hepatitis con incrementos en las concentraciones de mercurio en sangre y tejidos. Cambios vacuolares e inflamación en nervios periféricos se correlacionaron con los niveles de mercurio en sangre y tejidos. También se encontraron alteraciones en las células de la serie blanca y depleción linfoidea en la bolsa de Fabricio (²⁶¹Hoffman *et al.*, 2009).

La intoxicación aguda por cobre en aves se manifiesta principalmente por la erosión de la molleja y el proventrículo (²⁶²Henderson y Winterfield, 1975; ²⁶³Poupoulis y Jensen, 1976; ²⁶⁴Jensen y Maurice, 1978).

En el caso de la intoxicación por zinc, la pancreatitis es la lesión más característica, siendo evidenciada tanto en aves silvestres como de cautividad (²⁶⁵Droual *et al.*, 1991; ²⁶⁶Zdziarski *et al.*, 1994; ²⁶⁷Beyer *et al.*, 2004; ²⁶⁷Sileo *et al.*, 2004).

▪ Alteraciones en el desarrollo y el comportamiento

Aunque un exceso de zinc causa teratogénesis en embriones de ranas y peces, no existe evidencia definitiva de este efecto en vertebrados superiores. De hecho, en mamíferos, un exceso de zinc puede llegar a proteger contra determinados teratógenos (¹⁴⁶Eisler, 1993).

Tanto el plomo como el cadmio parecen influir en el crecimiento de aves expuestas. En estudios experimentales se ha observado una alteración de la actividad de enzimas del metabolismo cerebral relacionada con un retraso en el crecimiento en los animales expuestos a plomo (²⁶⁸Hoffman *et al.*, 1985). En garzas expuestas a cadmio el crecimiento de huesos fue menor que en las no expuestas (²⁶⁹Spahn y Sherry, 1999).

También se han comprobado otros efectos del plomo en los pollitos de aves expuestas como la disminución en la intensidad para demandar alimento de los padres, incoordinación de movimientos y falta de precisión al coger las cebas de los padres (²⁷⁰Burger y Gochfeld, 1994), así como problemas para reconocer a sus hermanos y regresar al nido (²⁷¹Burger, 1998).

Se ha comprobado experimentalmente efectos teratogénicos como alteraciones en el desarrollo embrionario, así como malformaciones muscular esqueléticas, alteraciones en ojos y encéfalo, micromelia y gastrosquisis en embriones de huevos expuestos a MeHg (Hoffman y Moore, 1979; ²⁷²Heinz *et al.*, 2011).

▪ Afecciones sobre el sistema inmune

Exposiciones a plomo y cadmio pueden afectar al sistema inmune de las aves a niveles que no parecen provocar otras alteraciones en el organismo (²⁷³Exon, 1984; ²⁷⁴Trust *et*



al., 1990; ²¹²Redig *et al.*, 1991; ²⁷⁵Rocke y Samuel, 1991; ²⁷⁶Fair y Myers, 2002). Estas afecciones se producen tanto sobre la inmunidad humoral como sobre la celular (²⁷⁷Koller, 1980; ²⁷⁵Rocke y Samuel, 1991; ²⁷⁸Snøeijns *et al.*, 2004; ⁷⁴Baos *et al.*, 2006).

Los metales pesados, por regla general, se consideran inmunosupresores, (aumento de la susceptibilidad a agentes infecciosos) (²⁷⁹Fairbrother *et al.*, 2004). Aunque algunos autores sugieren que esta inmunosupresión puede estar relacionada con efectos citotóxicos directos sobre las células del sistema inmune, carcinogénesis, deficiencias nutricionales, respuesta al estrés o incluso la estacionalidad, es necesario seguir investigando acerca de los mecanismos implicados (²⁷³Exon, 1984; ²⁸⁰Grasman y Scanlon, 1995; Baos *et al.*, 2006). Diversos factores son los que influyen en la inmunomodulación provocada por los metales (la ruta de exposición, dosis, duración de la exposición, estatus reproductivo, estado nutricional, edad y características genéticas) (²⁷³Exon, 1984; ²⁸¹Descotes, 1988; ²⁷⁹Fairbrother *et al.*, 2004).

▪ **Carcinogenicidad y mutagenicidad**

Cadmio y plomo han demostrado poder carcinogénico en animales de laboratorio (¹⁶¹Goyer, 1996; Goyer y Clarkson, 2001) y en organismos acuáticos (Black *et al.*, 1996).

También se ha observado genotoxicidad en pollos de Milano negro (*Milvus migrans*) expuestos a niveles bajos de cadmio (<18 µg/dL) aunque este hecho estaba potenciado por una mala condición corporal (²⁸²Baos *et al.*, 2006). En este mismo estudio se encontró que Milano negro era más sensible que la Cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*). Linfocitos de pollos de Cigüeña blanca cuyos nidos se situaban cerca de una zona contaminada por la rotura de una balsa con residuos de la minería (As, Cd, Pb y Zn) presentaban daños en su ADN (²⁸³Pastor *et al.*, 2001).

Por otro lado, el elevado estrés oxidativo producido por la exposición a metales pesados puede causar un incremento de la mutagenicidad así como inhibir los mecanismos de reparación del ADN en aves y formar aductos en las bases de nucleótidos del ADN (²⁸⁴Eeva *et al.*, 2006).

▪ **Efectos sobre la reproducción**

El éxito reproductivo es esencial para la conservación, entendida esta como viabilidad de la especie y la colonización de nuevas áreas de nidificación, ya que las parejas que no tienen éxito en la reproducción suelen desertar de las zonas de nidificación (²⁸⁵Oró y Ruxton, 2001; ²⁸⁶Janssens *et al.*, 2003; ²⁸⁷Becares *et al.*, 2016). Los daños provocados por la exposición a metales pesados pueden afectar de manera decisiva a la productividad (número de pollos que vuelan/ por número de parejas), de una colonia de aves acuáticas



marinas (¹³⁷Burger y Gochfeld, 1997; ²⁶⁹Spahn y Sherry, 1999; Champoux *et al.*, 2006). Alteraciones en el comportamiento prenupcial de los adultos y en la puesta de huevos, mortalidad embrionaria (reducción del número de nacimientos), incremento de la mortalidad en pollos los primeros días de vida y alteración en el comportamiento de los pollos, han sido asociados con elevadas exposiciones a mercurio en aves (²⁸⁸Heinz, 1979; ²⁸⁹Eisler, 1987; ²⁹⁰Thompson, 1996; ²⁹¹Nocera y Taylor, 1998; ^{292,286}Janssens *et al.*, 2003).

Existen datos contradictorios sobre los efectos de cadmio y plomo sobre el tamaño de puesta y grosor de cáscara. Mientras que algunos estudios experimentales describen disminución de la puesta y del grosor de cáscara en ánades, gallinas y codornices (²⁹³White y Finley, 1978; ²⁹⁴Edens y Garlich, 1983; ¹¹Scheuhammer, 1987), estos no se han observado en rapaces en cautividad (²²¹Pattee, 1984), ni en aves de vida libre (¹¹Scheuhammer, 1987; ²⁹⁵Furness, 1996; ²⁸⁶Janssens *et al.*, 2003; ²⁹⁶Dauwe *et al.*, 2004).

Los metales pesados, cuando son transferidos por la madre al huevo pueden afectar al sistema inmune, al desarrollo del sistema nervioso central del embrión y a la eclosión del pollito (²⁹⁴Edens y Garlich 1983; ²⁹⁷Nyholm, 1998, ²⁹⁸Bunn *et al.*, 2000).

Los daños provocados por la exposición a ciertos metales pesados como cadmio, plomo y mercurio pueden afectar de manera decisiva a otros aspectos de la productividad de una colonia de aves acuáticas marinas (²⁹⁹Evers *et al.*, 2008; ²⁷¹Burger, 1998; ²⁰⁸Burger, 2008). Así, se ha puesto de manifiesto que los pollitos nacidos de gaviotas expuestas a altos niveles de plomo, tienen dificultades para reconocer a sus compañeros de nido como sus hermanos, abandonándolo o apartándose de ellos, lo que provoca su muerte al ser atacados por otras gaviotas adultas que ven como invaden el territorio de sus nidos. En otras ocasiones, tienen dificultad para encontrar el nido a la hora de alimentarse ya que no utilizan a sus hermanos como referencia (²⁷¹Burger, 1998.).

Existen infinidad de patologías que pueden comportarse como un factor limitante de la supervivencia de una especie, pero casi todas cobran un mayor interés durante la época reproductiva, época especialmente crítica en la vida de los reproductores y de los propios neonatos. Aunque sería necesario un estudio continuado de al menos 20 años para poder afirmar cual es la tendencia de una población y las causas que influyen en ella y que actúan como factores limitantes (³⁰⁰Potts y Aebischer, 1991; ³⁰¹Pelton y Van Manen 1996; ³⁰²Lindenmayer *et al.*, 2009; ³⁰³Oró *et al.*, 2014).



III.4.1.4 INTERPRETACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS.

La interpretación de metales de la presente memoria se centrará en los tejidos y metales estudiados. Debido a la limitada información disponible, en distintas ocasiones se tendrán en consideración estudios realizados en aves no acuáticas.

▪ Metales en sangre de aves

Se considera vital para detener la inquietante pérdida de biodiversidad del planeta y monitorizar la salud de los ecosistemas, la realización de estudios sobre la respuesta de los vertebrados a los estresores naturales y antropogénicos (³⁰⁴Maceda-Veiga *et al.*, 2014). La función de la sangre, como vehículo para el transporte y distribución de contaminantes tras su ingreso en el organismo, la convierte en un medio adecuado para el estudio de contaminantes en vertebrados. De hecho, las concentraciones ambientales de contaminantes, frecuentemente, son correlacionados positivamente con sus niveles en sangre (⁶⁴Maceda-Veiga *et al.*, 2015).

El estudio de las concentraciones de metales en sangre nos da información sobre la exposición reciente a estos contaminantes (^{99,101,12}García-Fernandez *et al.*, 1995, 1996, 1997; ³⁰⁵Evers y Reaman, 2001; ^{117,140}Martínez-Lopez *et al.*, 2004, 2005; ⁷⁵Gómez-Ramírez *et al.*, 2011). La vida media en sangre del Pb es de 28 a 36 días (¹⁹⁴Mautino, 1997), y de 2,5 meses en el caso del Cd (³⁰⁶Ramírez, 2002). El metilmercurio presenta una vida media en sangre de aves, que no estén en proceso de muda o en periodo reproductivo, de entre 40 días y 3 meses (¹¹Scheuhammer, 1987; ⁸²Monteiro y Furness, 2001). Por otro lado el estudio de la sangre de los pollos de una colonia nos puede dar una idea aproximada del grado de exposición al que se encuentran sometidos los padres. De hecho, se ha comprobado como los parentales de especies de aves piscívoras pueden llegar a presentar concentraciones de mercurio en sangre de 3,6 a 10,6 veces las de sus pollos (¹³³Evers *et al.*, 2005).

Los metales en sangre provienen, por tanto, de una exposición local por los alimentos y el agua, así como por una movilización de los tejidos internos (³⁰⁷Braune y Gaskin, 1987; ¹²¹Furness *et al.*, 1986, ³⁰⁸Burger y Gochfeld, 1995). Sin embargo, si las aves no movilizan sus reservas energéticas a partir de la grasa acumulada, o el calcio de sus huesos, entonces las concentraciones de metales en sangre deben reflejar de una manera importante la exposición local (⁷⁹Burger y Gochfeld, 1997) y reciente (³⁰⁹Sanpera *et al.*, 2007). Se han relatado diferencias entre las concentraciones de metales presentes en la sangre de pollos de gaviota y de los adultos (³¹⁰Honda *et al.*, 1990). No se conoce con seguridad, pero estas diferencias pueden deberse a que las aves adultas dan a sus pollos un alimento diferente al que ellas mismas consumen, conocedoras de que estos tienen



unas necesidades energéticas mayores, o que ambos, pollos y adultos, tienen diferentes capacidades para absorber los contaminantes asociados a estos (³¹¹Burger y Gochfeld, 1997; ¹³³Evers *et al.*, 2005).

Para poder interpretar correctamente las concentraciones de metales en sangre y establecer de una forma adecuada los niveles de exposición (aguda, crónica, letal o subletal) hay que conocer los niveles de contaminación de base del medio considerados como de “no exposición” (⁸⁸García-Fernández, 1994), ya que como algunos autores indican, la ubicuidad de ciertos metales en el medio procedentes de las actividades antropogénicas hace que no existan niveles que podríamos definir como “naturales” en el medio ambiente (¹⁹⁹Franson y Pain, 2011).

Por otro lado, factores como la explotación de los recursos alimenticios pueden condicionar el mapa de contaminantes que presenta un individuo o grupo de individuos. Así por ejemplo, en aves marinas, especies que se encuentren en la parte más alta de la cadena trófica y coman peces más grandes, deberían acumular mayores niveles de contaminantes que aquellos que se alimentan de otros recursos o se alimentan de peces más pequeños (²⁰⁴Burger, 2002). Las aves deben reflejar los niveles de contaminantes de las presas de las que ellas se alimentan, y ya que los peces carnívoros presentan mayores niveles que los herbívoros, omnívoros o planctívoros (³¹²Phillips *et al.*, 1980), conforme las aves tengan a su disposición un recurso u otro, sus niveles podrían ser diferentes, incluso en ejemplares de la misma especie.

En la tabla III.2. se recogen los valores de metales en sangre encontrados en distintas especies de aves que habitan zonas contaminadas y no contaminadas.

Tabla III.2. Concentraciones en sangre de metales encontrados en diferentes especies de aves ($\mu\text{g}/\text{dl}$ peso húmedo).

AC: área contaminada; ANC: área no contaminada. ND: no detectado

ESPECIE	CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN SANGRE ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	OBSERVACIÓN	REFERENCIA
Águila perdicera (<i>Aquila fasciata</i>)	Pb= 18,00, Cd= 0,09	ANC	⁹⁹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1995
Águila pescadora (<i>Pandion haliaetus</i>)	Pb= 2-4	ANC	³¹³ Henny <i>et al.</i> , 1991
	Pb= ND; Zn= 448-610; Cd=ND; Cu= 31,8-39 Pb= 1,06-1,16;Zn= 494 524;Cd= ND; Cu=27,6-37,4	ANC AC	³¹⁴ Rattner <i>et al.</i> , 2008
	Pb= 0,89; Cd< 0,5; Cu= 29,8; Zn= 315; Hg= 15,1-54,8	AC Pollos	³¹⁵ Langner <i>et al.</i> , 2012
Pigargo americano (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	Hg= 2 - 25	Pollos	³¹⁶ Jagoe <i>et al.</i> , 2002
Águila calzada (<i>Aquila pennata</i>)	Pb= 3,21	ANC	¹⁴⁰ Martínez-López <i>et al.</i> , 2004
	Pb= 8,75; Cd= 0,11	ANC	⁹⁹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1995
	Cd= 0,3	ANC Pollos	¹¹⁷ Martínez-López <i>et al.</i> , 2005
Aguilucho pálido (<i>Circus cyaneus</i>)	Pb= 6,7 Pb= 4,2	AC-Pollos ANC-Pollos	²⁴⁶ Henny <i>et al.</i> , 1994
Albatros patinegro (<i>Phoebastria nigripes</i>)	Cd=0,69; Pb= 1,21; Cu= 60,2; Zn= 428; Hg= 52.	Pollos	³¹⁷ Ikemoto <i>et al.</i> , 2005
Alimoche común (<i>Neophron percnopterus</i>)	Pb= 0,56-21,73 Pb= 0,51-178 Pb= 9,33 Pb= 2,88	P. Ibérica Islas Canarias Temporada caza Época veda	³¹⁸ Gangoso <i>et al.</i> , 2009
	Pb= 14,6; Cd= 0,113; Cu= 0,047; Zn= 361,5		³¹⁹ Donázar <i>et al.</i> , 2002
Autillo californiano (<i>Megascops kennicottii</i>)	Pb= 10; Cd= 1,7	AC-pollos	²⁴⁶ Henny <i>et al.</i> , 1994

ESPECIE	CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN SANGRE (µg/dl)	OBSERVACIÓN	REFERENCIA
Avoceta americana (<i>Recurvirostra americana</i>)	Hg= 4-68	media geométrica	³²⁰ Eagles-Smith <i>et al.</i> 2008
Azor común (<i>Accipiter gentilis</i>)	Pb= 7,60	ANC-Pollos	¹⁴⁰ Martínez-López <i>et al.</i> , 2004
	Pb= ND; Cd= ND; Cu= 39,9; Zn= 180	ANC	³²¹ Stout <i>et al.</i> , 2010
	Cd= 0,58	ANC-Pollos	¹¹⁷ Martínez-López <i>et al.</i> , 2005
Búho americano (<i>Bubo virginianus</i>)	Pb= 3,8; Cd= 0,35	AC-Pollos	²⁴⁶ Henny <i>et al.</i> , 1994
Búho real (<i>Bubo bubo</i>)	Pb= 8,32; Cd= 0,10	ANC	¹⁰¹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1997
	Cd= 0,11; Cu= 32,37; Zn= 351,92; Pb= 3,18; Cd= 0,08; Cu= 45,6; Zn= 327,47; Pb= 8,61;	ANC-Pollos AC-Pollos	³²² Gómez-Ramírez, 2011
Buitre leonado (<i>Gyps fulvus</i>)	Pb= 43,07	AC	¹⁸¹ García-Fernández <i>et al.</i> , 2005
	Pb= 37,9; Cd= 0,11	ANC	⁹⁹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1995
	Pb= 10,4; Cd= <1; Hg= <2 Pb= 14,2; Cd= <1; Hg= 1,2 Pb= 8,4; Cd= <1; Hg= 1,3	ANC-Juveniles ANC-Subadultos ANC-Adultos	³²³ Shlosberg <i>et al.</i> , 2012
	Pb= 15.32-41,44; Cd= 0.018-0,025; Cu= 20.39-26,85; Zn= 332.16-347,12; Hg= 2.27-1,72;	ANC	³²⁴ Espín <i>et al.</i> , 2014
Burrito cuyano (<i>Laterallus jamaicensis</i>)	Hg=49	Media geométrica	³²⁵ Tsao <i>et al.</i> , 2009
Busardo colirrojo (<i>Buteo jamaicensis</i>)	Pb= ND; Cd=0, 9 Pb= ND; Cd= ND	ANC-Pollos AC-Pollos	²⁴⁶ Henny <i>et al.</i> , 1994
Busardo ratonero (<i>Buteo buteo</i>)	Cd= 0,16	ANC-Pollos	¹¹⁷ Martínez-López <i>et al.</i> , 2005
	Pb= 10,8	ANC	¹⁰¹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1997
	Pb= 2,74	ANC	¹⁴⁰ Martínez-López <i>et al.</i> , 2004
	Pb= 11,80; Cd= 0,09	ANC	⁹⁹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1995
Cernícalo americano (<i>Falco sparverius</i>)	Pb= 33	Grupo control estudio experimental	²⁰⁶ Custer <i>et al.</i> , 1984
	Pb= 24 (AC) y 8,7(ANC) Pb= 46 (AC) y 25 (ANC)	Pollos Adultos	²⁴⁶ Henny <i>et al.</i> , 1994

ESPECIE	CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN SANGRE (µg/dl)	OBSERVACIÓN	REFERENCIA
Cernícalo vulgar (<i>Falco tinnunculus</i>)	Pb= 10	ANC	¹⁰¹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1997
	Pb= 11,52; Cd= 0,14	ANC	⁹⁹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1995
Cigüeñuela común (<i>Himantopus himantopus</i>)	Hg= 2-9	Pollos	³²⁶ Tavares <i>et al.</i> ,2004
Cigüeñuela de cuello negro (<i>Himantopus mexicanus</i>)	Hg= 47-183	Media geométrica	³²⁷ Eagles-Smith <i>et al.</i> ,2009
Colimbo grande (<i>Gavia immer</i>)	Hg=35	Pollos	¹³⁹ Champoux <i>et al.</i> ,2006
Correlimos común (<i>Calidris alpina</i>)	Hg= 19,3; Cd= ND; Pb= 1,8		³²⁸ Hargreaves <i>et al.</i> , 2011
Correlimos culiblanco (<i>Calidris fuscicollis</i>)	Hg= 34,7; Cd= ND; Pb= 1,9		³²⁸ Hargreaves <i>et al.</i> , 2011
Charrán común (<i>Sterna hirundo</i>)	Hg= 39	Problemas de muda	³²⁹ Gochfeld, 1980
Charrán sombrío (<i>Sterna fuscata</i>)	Hg= 44.1		³²⁹ Gochfeld ,1980
	Hg= 447; Cd= 85		³³⁰ Stoneburner <i>et al.</i> ,1980
Chorlito gris (<i>Pluvialis squatarola</i>)	Cd= ND; Hg= 37,8; Pb= 1,9		³²⁸ Hargreaves <i>et al.</i> , 2011
Chorlito semipalmado (<i>Charadrius semipalmatus</i>)	Cd= ND; Hg= 23,5; Pb= 1,4		³²⁸ Hargreaves <i>et al.</i> , 2011
Cigüeña Blanca (<i>Ciconia ciconia</i>)	Cu= 31,97-42,56; Pb= 5,22-7,92; Zn= 0,18-0,33; Cd= 0,03-0,07	AC	⁷⁴ Baos <i>et al.</i> , 2006
	Cd= ND; Pb= 10,7-14,6; Zn= 231-281; Hg= 2,4-5,3; Cd= 0,049; Pb= 0,8; Zn= 26,6; Hg= 8,2	AC ANC	³³¹ De la Casa-Resino <i>et al.</i> , 2014
Diversas aves	Pb= <10	ANC	²⁵³ Hoffman <i>et al.</i> , 1981; ¹⁸³ Pattee y Hennes, 1983
	Pb= 4,8	ANC	³³² Scheuhammer, 1989
Eider común (<i>Somateria mollissima</i>)	Hg=23; Cd=0,27-0,66	hembra	³³³ Wayland <i>et al.</i> , 2001
Falaropo rojo (<i>Phalaropus fulicarius</i>)	Hg=50,8; Cd=ND; Pb=0,4		³²⁸ Hargreaves <i>et al.</i> , 2011

ESPECIE	CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN SANGRE (µg/dl)	OBSERVACIÓN	REFERENCIA
Garceta común (<i>Egretta garzetta</i>)	Cd=0,19; Pb=15		⁹⁹ García-Fernández, 1995
Garza Real (<i>Ardea cinérea</i>)	Cd=0,22; Pb=16		⁹⁹ García-Fernández, 1995
Gavilán de Cooper (<i>Accipiter cooperii</i>)	Pb= 6,3 (primavera) y 3,2 (otoño)	ANC-Adultos	³³⁴ McBride <i>et al.</i> , 2004
	Pb= 2,8	ANC-Juveniles	³³⁴ McBride <i>et al.</i> , 2004
Gaviota argéntea (<i>Larus argentatus</i>)	Cd=0.9-4,7; Pb=9,4-17,6; Hg=7,1-9,5	AC-Pollos	³³⁵ Burger y Gochfeld, 1997
	Cd=1,6; Pb=23,3; Hg=9,3	AC-Adultos	³³⁵ Burger y Gochfeld, 1997
	Hg=5,9 - 8,3	Pollos	³³⁶ Kahle y Becker, 1999
Gaviota de Audouin (<i>Ichthyaetus audouinii</i>)	Pb=1,87	ANC-Pollos	²⁴⁸ Espín <i>et al.</i> , 2015
Gaviota californiana (<i>Larus californicus</i>)	Hg= 28 Hg= 65	ANC AC	²³⁴ Conover <i>et al.</i> , 2009
Gaviota de Franklin (<i>Leucophaeus pipixcan</i>)	Cd=9,9; Pb=1,2; Hg=2,1	ANC-Pollos	³³⁵ Burger y Gochfeld, 1997
	Cd=0,6; Pb=2,9; Hg=5,6	ANC-Adultos	³³⁵ Burger y Gochfeld, 1997
Gaviota picofina (<i>Larus genei</i>)	Pb=2,01	ANC-Pollos	²⁴⁸ Espín <i>et al.</i> , 2015
Milano negro (<i>Milvus migrans</i>)	Pb=5,4; Cd=0,68; Cu=21,1; Zn= 330	AC	³³⁷ Benito <i>et al.</i> , 1999
	Pb= 8,4; Cd= 0,18; Cu=32; Zn= 537	AC	²³⁶ Blanco <i>et al.</i> , 2003
	Pb= 4,67; Cd= 0,05; Cu= 36,4; Zn= 482	AC	⁷⁴ Baos <i>et al.</i> , 2006 ⁷⁴ Baos <i>et al.</i> , 2006
Mochuelo común (<i>Athene noctua</i>)	Pb= 9,4	ANC	¹⁰¹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1997
	Pb= 7,93; Cd= 0,08	ANC	¹⁰¹ García-Fernández <i>et al.</i> , 1997
Ostrero euroasiático (<i>Haematopus ostralegus</i>)	Cd= 5; Hg= 4,1; Pb= 11; Cd= 200; Hg= 3,9; Pb= 5,5	AC ANC	³³⁸ Thompson and Dowding, 1999
Quebrantahuesos (<i>Gypaetus barbatus</i>)	Pb= 2,33 Pb= 4,56 Pb= 4,20 Pb= 5,45	Pollos Juveniles Subadultos Adultos	³³⁹ Hernández y Margalida, 2009
Vuelvepedras común (<i>Arenaria interpres</i>)	Hg= 58,7 ; Cd= ND; Pb= 1,0		³²⁸ Hargreaves <i>et al.</i> , 2011



El diagnóstico de la intoxicación aguda causada por los diferentes metales, la mayoría de las veces, puede establecerse merced a las lesiones patognomónicas que presentan los animales sin necesidad de establecer un umbral de toxicidad para cada especie, hecho que se ha podido comprobar en el caso del plomo (¹⁹⁹Franson y Pain, 2011). No obstante, lo que se suele encontrar en los programas de biomonitorización son exposiciones de tipo crónico, a dosis subletales (⁸⁸García-Fernández, 1994), donde las lesiones no son tan evidentes. Por ello el estudio de estos niveles subletales en el mayor número de especies y en distintos estados fisiológicos resulta fundamental.

Con el fin de caracterizar diferentes niveles de exposición de acuerdo a las concentraciones de plomo encontrado en sangre, ¹⁹⁹Franson y Pain (2011) propusieron los siguientes niveles:

- **Intoxicación subclínica:** Es el rango de valores entre los cuales se producen efectos fisiológicos pero que son insuficientes para alterar de forma importante las funciones biológicas normales o causar síntomas de intoxicación. En esta situación, si desaparece la exposición a plomo las aves, probablemente, se recuperarán. Los niveles de plomo inferiores a este rango se pueden considerar como niveles de exposición considerados de base.
- **Intoxicación clínica:** Umbral aproximado en el que comienzan a aparecer signos clínicos como la anemia, lesiones tisulares, pérdida de peso, incoordinación de movimientos, diarrea vercosa y anorexia. Si la exposición persiste, se puede desencadenar la muerte del animal.
- **Intoxicación clínica grave:** Umbral aproximado en el que los efectos de la exposición pueden amenazar directamente la vida del animal.

Según ¹⁹⁹Franson y Pain (2011), en base a los estudios encontrados, los niveles en Falconiformes correspondientes a cada nivel son los recogidos en la tabla III.3.

Tabla III.3. Interpretación de las concentraciones de plomo ($\mu\text{g/dL}$ peso húmedo) en falconiformes (tomado de Franson y Pain, 2011).

Exposición	Concentración en sangre	Referencias
Subclínica	20, <50	²⁰⁶ Custer <i>et al.</i> , 1984; ³¹³ Henny <i>et al.</i> , 1991; ³⁴⁰ Kramer y Redig, 1997
Clínica	50-100	¹⁹⁷ Lumeij <i>et al.</i> , 1985; ³⁴⁰ Kramer y Redig, 1997
Clínica grave	>100	³⁴¹ Redig <i>et al.</i> , 1980; ²⁵³ Hoffman <i>et al.</i> , 1981; ^{258,342} Pattee <i>et al.</i> , 1981, 2006; ³⁴³ Langelier <i>et al.</i> , 1991; ³⁴⁴ Kramer y Redig, 1997



No obstante, diversos factores pueden interaccionar y causar variaciones en estos niveles umbral (¹⁹⁹Franson y Pain, 2011). Por ejemplo, estudios más recientes mostraron que niveles de Pb inferiores a los 15 µg/dl ya se relacionan con efectos subletales como la inhibición de la enzima ALAD en rapaces y aves acuáticas (⁷⁵Gómez-Ramírez *et al.*, 2011; ²⁴⁷Martínez-Haro *et al.*, 2011; ¹⁴⁰Martínez-López *et al.*, 2004).

Por otro lado, dado que el plomo es un contaminante bioacumulable en el organismo, la exposición continuada a este metal podría suponer que individuos expuestos a concentraciones relativamente bajas durante un largo periodo de tiempo (crónicas) puedan sufrir efectos similares a aquellos expuestos a altos niveles de manera aguda, aun presentando, los primeros, bajas concentraciones de plomo en sus tejidos (¹⁹⁹Franson y Pain, 2011).

Al igual que en el caso del plomo, el tipo la exposición habitual a cadmio es a bajas dosis (⁸⁸García-Fernández, 1994). La existencia de cadmio en sangre puede ser un buen indicador de exposición reciente a este metal (¹⁰¹García-Fernández *et al.*, 1997). Concentraciones inferiores a 0,5 µg/dl en sangre, se pueden considerar como valores relacionados con exposición de base en humanos. Aún no se ha establecido un umbral de toxicidad para Cd en sangre ni un rango de concentraciones correspondientes a contaminación de base en aves (¹¹⁷Martínez-López *et al.*, 2005; ²⁰⁸Burger, 2008). Sin embargo, se han observado efectos adversos en faisanes a partir de 1,7 µg/dl (³⁴⁵Swiergosz y Kowalska, 2000).

En cuanto al mercurio, concentraciones sanguíneas de hasta 0,01 µg/dl en adultos de Colimbo grande no se relacionaron con ningún efecto reproductivo o de comportamiento, razón por la cual se consideró este nivel como el NOAEL (nivel sin efecto observado) en esta especie (³⁴⁶Evers *et al.*, 2004). En cambio, colimbos con niveles de Hg en sangre entre 0,01 y 0,03 µg/dl mostraron alteraciones comportamentales, modificaciones en parámetros fisiológicos y problemas reproductivos (³⁴⁷Burgess y Meyer, 2008; ²⁹⁹Evers *et al.*, 2008). Sin embargo, los efectos a estos niveles no están bien definidos, estableciendo como LOAEL (menor nivel con efecto observado), concentraciones de mercurio de 0,03 µg/dl en sangre para esta especie (³⁴⁸Evers *et al.*, 2004). Esta concentración se relacionó con alteraciones del comportamiento reproductor (abandono del nido durante la incubación, letargia, tiempo dedicado a la captura de alimento) (²⁹⁹Evers *et al.*, 2008), mayores niveles de corticosterona y asimetría en las plumas de vuelo (³⁴⁸Evers *et al.*, 2004). Además, se observó una reducción del 41% en la productividad (³⁴⁷Burgess y Meyer, 2008; ²⁹⁹Evers *et al.*, 2008). Concentraciones por encima de 0,04 µg/dl se categorizan como de riesgo muy alto, relacionado con cambios comportamentales como



menores tiempos de incubación (³⁴⁸Evers *et al.*, 2004). En los pollos de Colimbo de entre 4 y 6 semanas, concentraciones de Hg en sangre a partir de 30 µg/dl se asocian con menor número de pollos nacidos o que sobreviven a las 6 semanas de vida (³⁴⁹Evers y Reaman, 1998).

En lo que respecta a los metales esenciales, el cobre, a pesar de que es un oligoelemento, puede producir intoxicaciones en aves (³⁵⁰Gilbert *et al.*, 1994). Los valores de Cu encontrados en aves sanas ingresadas en centros de recuperación oscilaron entre 13 y 120 µg/dl (³⁵¹García-Fernández *et al.*, 2005). En cuanto al Zn, la mayoría de los animales pueden tolerar un exceso moderado en la dieta y regular los niveles en su organismo de forma efectiva (³⁵²Ewan, 1978; ³⁵³Sileo *et al.*, 2003), con el concurso de las metalotioneínas, por lo que altas concentraciones de Zn no son alarmantes desde el punto de vista toxicológico (³⁵⁴Goede, 1985). No obstante, los mecanismos de control a nivel fisiológico pueden llegar a fracasar cuando las concentraciones de Zn son extremadamente elevadas (³⁵³Sileo *et al.*, 2003). En aves intoxicadas, los niveles séricos de Zn, oscilaron entre 640 y 3200 µg/dl (³⁵⁵Carpenter *et al.*, 2004; ³⁵³Sileo *et al.*, 2003; ²⁶⁶Zdziarski *et al.*, 1994), mientras que una media de 271-313 µg/dl correspondió a aves sanas según otros autores (³⁵¹García-Fernández *et al.*, 2005).

La exposición a diferentes contaminantes metálicos puede provocar daños a nivel celular incluso a bajas dosis debido a la sinergia de sus efectos. Así se ha comprobado como en gaviota de Audouin concentraciones de 13 µg/dl de mercurio y cobre en sangre, 335 µg/dl de Zn, o incluso menores en el caso de gaviota picofina, pueden provocar peroxidación lipídica en las membranas celulares y liberación de TBARS a pesar de los efectos antioxidantes de enzimas como el glutatión (GSH) (²⁴⁹Espín *et al.*, 2016).

▪ Metales en cáscara de huevo

En las aves, a diferencia de lo que ocurre con los mamíferos, el embrión se desarrolla en el interior del huevo, una vez este se encuentra fuera de la madre, por lo que no recibe el aporte continuo de nutrientes que acontece a través de la placenta en los mamíferos. Esto se traduce en que todos los nutrientes, incluidos los minerales requeridos para el desarrollo del embrión, son depositados en el interior del huevo durante su formación en el tracto reproductor de la hembra (³⁵⁶White, 1991). Al mismo tiempo también se forman las membranas encargadas de su protección. La deposición de elementos traza (minerales) desde la madre al huevo se realiza por dos vías: desde el ovario hasta el contenido (embrión) y desde el oviducto hasta el albumen, membranas terciarias y cáscara (³⁵⁷Richards, 1997).



No hay demasiados estudios que hayan citado concentraciones de elementos inorgánicos en cáscaras de huevo. ³⁵⁸Dauwe *et al.* (1999) señalaron que algunas especies de paseriformes secuestran los metales no esenciales en sus cáscaras. Por otro lado ³⁵⁹Burger (1994) encontró al estudiar huevos de Gaviota argétea (*Larus argentatus*) que las concentraciones de Pb, Hg, Se y Cr eran mayores en el interior del huevo que en la cáscara mientras el Cd y el Mn era mayor en cáscara que en el interior. ³⁶⁰Morera *et al.* (1997) encontraron en Gaviotas de Audouin concentraciones de elementos como Zn, Cu, Mn y Hg, un 80-99% mayor en el interior del huevo que en la cáscara.

En un estudio sobre la deposición de minerales en el huevo de tortugas se comprobó como el zinc que se depositaba en la cáscara suponía solo el 6,9% del total del encontrado en el huevo. Respecto a otros metales, ³⁶¹Mora (2003) comprobó cómo en huevos de dos especies de paseriformes (*Icteria virens* y *Empidonax traillii*), se encontraban entre 2 y 35 veces más concentración de minerales (As, Ba, Ni, Sr, Pb y V), en la cáscara que en el interior del huevo. En la primera especie, el zinc se encontraba en una concentración 6 veces mayor en el interior del huevo que en la cáscara y en la otra no se encontró diferencia alguna (³⁶¹Mora, 2003). Su estudio mostraba que un buen número de elementos inorgánicos se acumulan en la cáscara y tienen un efecto potencial sobre la estructura y funcionalidad de la misma. Además existe un transporte considerable de los sólidos y minerales de las cáscaras hacia el embrión en la segunda mitad de la incubación (³⁶²Romanoff y Romanoff, 1967), por lo que contenidos de contaminantes en ella podrían suponer un riesgo para el embrión en los últimos estadios del desarrollo y podrían poner en peligro la eclosión (³⁶¹Mora, 2003).

Existe una relación de los contaminantes ambientales con fenómenos de mortalidad perinatal, disminución de la productividad, alteraciones en el comportamiento, disminución del grosor de la cáscara del huevo, etc., que influyen sobre el éxito reproductor de una especie (³⁶³Gilbertson *et al.*, 1991; ³⁶⁴Elliott y Martin, 1994; ³⁶⁵McCarty y Secord, 1999; ³⁶⁶Fernie *et al.*, 2008). A consecuencia de estos efectos de la contaminación, muchísimas especies han sufrido importantes mermas en sus densidades poblacionales (³⁶⁷Mora *et al.*, 1993; ³⁶⁸Fry, 1995; ¹³²Henny y Elliott, 2007) incluso hasta niveles críticos. Como ya se ha comentado en esta memoria, la Unión Europea viene adoptando desde hace años medidas legislativas que limitan el uso y la producción de ciertos compuestos que pueden afectar a la salud del ecosistema, como consecuencia se ha producido una disminución progresiva de los niveles de estos contaminantes en el medio y por ende en los tejidos de los animales (¹⁶García-Fernández *et al.*, 2008). No obstante la escasa biodegradación de algunos compuestos sumados a su capacidad de bioacumulación y biomagnificación a través de la cadena trófica, hace que la mayoría de



ellos sean fácilmente detectables en la naturaleza y en el interior de los organismos vivos, lo que pone en riesgo a sus poblaciones (³⁶⁹van den Steen *et al.*, 2009).

A continuación, en la tabla III.4, se muestran concentraciones de los metales estudiados en esta memoria encontradas por otros autores en cáscara de huevo.

Tabla III.4. Concentraciones medias de cadmio, plomo, cobre y zinc ($\mu\text{g/g}$ peso seco) en cáscara de huevo de diversas aves.

Especie	Concentración				Referencia
	Cadmio	Plomo	Cobre	Zinc	
Aguilucho cenizo (<i>Circus pygargus</i>)	4,70	-	-	10,49	³⁷⁰ Ramón, 2009
Albatros colicorto (<i>Phoebastria albatrus</i>)	0,01	0,01	0,77	5,61	³¹⁷ Ikemoto <i>et al.</i> , 2005
Albatros patinegro (<i>Phoebastria nigripes</i>)	0,10	0,04	0,78	3,39	³¹⁷ Ikemoto <i>et al.</i> , 2005
Carbonero común (<i>Parus mayor</i>)	0,31	15	3,2	28	³⁵⁸ Dauwe <i>et al.</i> , 1999
Charran embridado (<i>Onychoprion anaethetus</i>)	0,002	0,06	1,24		³⁷¹ Lam <i>et al.</i> , 2005 (media geométrica)
Gaviota argénteo americana (<i>Larus smithsonianus</i>)	0,069-0,28	0,54-2,5	-	-	³⁷² Gochfeld, 1997
Gaviota de Audouin (<i>Ichtyaetus audouinii</i>)	nd	nd	2,14	6,58	³⁶⁰ Morera <i>et al.</i> , 1997
		0,95-4,6	1,86-10,2		³⁷³ Ayafi <i>et al.</i> , 2008
Gaviota japonesa (<i>Larus crassirostris</i>)	0,45	3,10	2,80	52	³⁷⁴ Kim y Oh, 2014
Garceta común (<i>Egretta garzetta</i>)	0,001	0,014	6,58		³⁷⁵ Ayas, 2007
	0,85-1,2	1,09-1,9	0,12-0,29		⁹⁵ Hashmi <i>et al.</i> , 2013 (media geométrica)
Garcilla Bueyera (<i>Bubulcus ibis</i>)	0,36-1,06	0,13-5,40	0,06-0,11		⁹⁵ Hashmi <i>et al.</i> , 2013 (media geométrica)
Garza real (<i>Ardea cinérea</i>)	0,93	6,83	6,76		³⁷⁵ Ayas, 2007
Gorrión común (<i>Passer domesticus</i>)	0,01	3,3	1,0		³⁷⁶ Swaileh y Sansur, 2006
Herrerillo común (<i>Cyanistes caeruleus</i>)	0,15	7,4	2,8	32	³⁵⁸ Dauwe <i>et al.</i> , 1999
Martinete (<i>Nycticorax nycticorax</i>)	0,23	1,11	1,69		³⁷⁵ Ayas, 2007
Mosqueta saucera (<i>Empidonax traillii extimus</i>)	-	0,9	3	46,2	³⁶¹ Mora, 2003
Pingüino Juanito (<i>Pygoscelis papua</i>)	<0,05	0,68	1,24		³⁷⁷ Metcheva <i>et al.</i> , 2011
Reinita grande (<i>Icteria virens</i>)	-	0,6	6,2	52,4	³⁶¹ Mora, 2003



▪ Metales en plumas

El uso de plumas como elemento de estudio en los programas de biomonitorización, como ya hemos comentado anteriormente, tiene ventajas sobre el uso de otros tejidos. Durante el corto espacio de tiempo en el que la pluma crece, son capaces de acumular ciertos metales en proporción a los niveles sanguíneos (³⁷⁸Ansara-Ross, 2013), reflejando la exposición a contaminantes durante el tiempo que la pluma está creciendo (²⁷Burger, 1993; ³⁴Dauwe *et al.*, 2000; ¹¹⁷Martínez-López *et al.*, 2005). La deposición mecánica de contaminantes sobre la pluma puede tener también un importante impacto sobre las concentraciones de metales encontrados en ella. Esta contaminación puede producirse por deposición atmosférica, contacto directo con el medio (suelo, polvo, agua) o por deposición de contaminantes durante el acicalamiento (³⁷⁹Dauwe *et al.*, 2002).

En estas estructuras el metal puede llegar a acumularse a niveles superiores a los presentes en los tejidos internos del ave (³⁸⁰Grue *et al.*, 1986), constituyendo por tanto una muestra no invasiva que permite cuantificar la contaminación metálica del medio sin estresar en exceso al ave. En todo caso, estudios recientes demuestran la gran utilidad de estas estructuras orgánicas en biomonitorización ambiental, especialmente frente a la contaminación por elementos inorgánicos, que tienden a acumularse en la pluma durante todo el proceso de crecimiento de ésta (³⁸¹Lodenus y Solonen, 2013; ²⁹Espín *et al.*, 2016).

La acumulación de metales en el organismo no solo depende de la dieta. Otros parámetros como la edad, género, época del año de la toma de muestras y localización geográfica también tienen influencia (³⁸²Kim *et al.*, 1998). Algunos autores hipotetizan que conforme envejece el animal las concentraciones en sus plumas disminuyen, posiblemente por las múltiples mudas en las que los contaminantes van siendo liberados (³⁸³Grúz *et al.*, 2015).

En ciertas especies de aves, como las rapaces nocturnas, el cadmio, cobre, plomo y zinc son los más frecuentemente encontrados (³⁷⁸Ansara-Ross, 2013). El mercurio también es otro de los contaminantes encontrado en plumas debido a su afinidad y fuerte unión a los grupos sulfidrilo de la queratina que la conforman (³⁸⁴Burger y Gochfeld, 2001), y alcanza especial relevancia en especies relacionadas con el medio acuático (¹³⁹Champoux *et al.*, 2006). En la tabla III.5 se recopilan los niveles de metales encontrados en plumas de distintas especies de aves.

Tabla III.5. Concentraciones medias de cadmio, plomo, cobre y zinc ($\mu\text{g/g dw}$) en plumas de diversas aves.

Especie	Concentración				Referencia
	Cadmio	Plomo	Cobre	Zinc	
Pigargo americano* (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	0,25	4,6			³⁸⁵ Burger & Gochfeld, 2009
Águila pescadora* (<i>Pandion haliaetus</i>)	0,11-026	0,8	6,8-8,1	110	³⁸⁶ Solonen <i>et al.</i> , 1999
Águila pescadora* ¹	0,08	0,3-0,5	5,9-8	69-92	³¹⁴ Rattner, 2008
Aguililla calzada ² (<i>Hieraetus pennatus</i>)	18,0	0,72			^{117,140} Martínez-Lopez <i>et al.</i> , 2004, 2005
Arao común* (<i>Uria aalge</i>)	1,93	8,154	0,51	1,93	³⁹ Perez, 2005
Alca común* (<i>Alca torda</i>)	2,05	6,38	0,53	4,51	³⁹ Perez, 2005
Alca común	0,04	1,21-1,88	7-11,5	112-130	³⁸⁷ Ribeiro, 2009
Azor ² (<i>Accipiter gentilis</i>)	18,0	0,98			^{140,117} Martínez-Lopez <i>et al.</i> , 2004, 2005
Frailecillo* (<i>Fratercula arctica</i>)	14,77	3,93	0,55	4,51	³⁹ Perez, 2005
Garcilla bueyera (<i>Bubulcus ibis</i>)	2,4-3,1	37,5-76,5	3,7-4,0	134-155	¹¹⁶ Malik, 2009
Gaviota de Audouin* ¹ (<i>Ichthyaetus audouinii</i>)		298,35 1364,68			³⁸⁸ García-Tarrasón, 2013
Gaviota reidora americana* (<i>Leucophaeus atricilla</i>)	0,19	2,3-2,8			²²² Gochfeld, 1996
Halcón yággar (<i>Falco jugger</i>)	0,10	1,56	0,86	107,4	³⁸⁹ Movalli, 2000
Lechuza del cabo (<i>Tyto capensis</i>)	0,063	3,89	2,26	32,4	³⁷⁸ Ansara-Ross, 2013
Lechuza común (<i>Tyto alba</i>)	0,38	5,61	2,29	75,1	Ansara-Ross, 2013
	4,2	170	77	877	³⁹⁰ Denneman, 1993
Busardo ratonero ² (<i>Buteo buteo</i>)	28,1	1,01			^{140,117} Martínez-Lopez <i>et al.</i> , 2004, 2005
	0,12	1,77-1,93			³⁹¹ Naccari, 2009
Cisne blanco (<i>Cygnus olor</i>)	0,5	1,11	10,24		³⁸³ Grúz <i>et al.</i> , 2015

¹Pollos; ² datos de la Región de Murcia; *piscívoras.



Niveles de Hg en plumas de entre 5 y 40 mg/kg se han relacionado con trastornos reproductivos en pollos de gaviota reidora (*Chroicocephalus ridibundus*), (³⁹²Lewis y Furness, 1991). Estudios realizados con varias especies de aves indican que concentraciones de 40 mg/kg de Hg en plumas se relaciona con problemas de fertilidad, trastornos reproductivos, baja tasa de eclosión y de supervivencia de los pollos (³⁹³Finley y Stendell, 1978; ³⁹⁴Solonen y Lodenius, 1984; ²⁸⁹Eisler, 1987). También ²⁸⁹Eisler (1987), refiriéndose al Ánade azulón, indica que valores de 9-11 mg/kg causan déficits reproductivos y de comportamiento.

Por otro lado, ³⁹⁵Bowerman *et al.*, (1994), hacen referencia a valores de mercurio entre 13-20 mg/kg en Pigargo americano (*Haliaeetus leucocephalus*), en los que no se detectaron problemas reproductivos. ³⁹⁶Scheuhammer, (1991), afirma que valores superiores a 20 mg/kg pueden ser la consecuencia de ingestas de alimento con concentraciones de mercurio superiores a 1 mg/kg, siendo esta concentración, en alimentos, propia de zonas húmedas. En cualquier caso este autor considera normales valores de mercurio en plumas de aves rapaces de 1-5 mg/kg. Otros autores consideran peligrosos para las aves valores de Hg en plumas sensiblemente más altos, mayores de 5 mg/kg (¹³⁷Burger y Gochfeld, 1997; ³⁹⁷Eisler, 2006; ³⁹⁸Albuja *et al.*, 2012).

²⁷⁰Burger y Gochfeld (1994) sitúan en 4 mg/kg de plomo en plumas los niveles asociados con retraso en el reconocimiento parental, problemas de termorregulación, problemas de locomoción, pérdida de la percepción de la profundidad y problemas en el comportamiento alimenticio de pollos de gaviota, además de estar asociados a con bajos niveles de supervivencia en esta misma especie (³⁹⁹Franson, 1996; ^{270,400}Burger y Gochfeld, 1994 y 2000).

Respecto al cadmio, ⁴⁰⁰Burger y Gochfeld (2000) citaron valores de 2000 µg/kg de cadmio en plumas como nivel relacionado con desordenes comportamentales, fisiológicos y nutricionales en aves. Entre los desórdenes más importantes se encuentran daños hepáticos, alteraciones comportamentales, supresión de la producción de huevos, delgadea de la cáscara del huevo y daños testiculares (²⁴⁴Eisler, 1985; ²⁹⁵Furness, 1996).

III.4.2. COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES (COPs).

A este grupo pertenecen los compuestos sintetizados por el hombre o derivados de su actividad y que son considerados como los mayores contaminantes del medio ambiente en todos los ecosistemas tanto acuáticos como terrestres (⁴⁰¹Herrera *et al.*, 1996; ⁴⁰²Jones y De Voogt, 1999; ⁴⁰³Van Wyk *et al.*, 2001). Dentro de este grupo se encuentran los plaguicidas organoclorados (OC) y los bifenilos policlorados (PCBs).



Los OC comprenden un grupo de compuestos orgánicos de síntesis derivados de hidrocarburos complejos en los que un hidrógeno es sustituido por cloro. Las principales propiedades físico-químicas de los OC y PCBs son su gran estabilidad química, con una gran resistencia a la biodegradación y por tanto persistencia en el medio, y su solubilidad en disolventes orgánicos y lípidos (⁴⁰⁴Álvarez y Cruz, 1989; ⁴⁰⁵Konstantinou *et al.*, 2000). Por otro lado, aunque en un principio no se pensaba que los PCBs supusieran un problema para el medio ambiente, el descubrimiento de su peligrosidad apareció tras análisis rutinarios de toxicovigilancia de plaguicidas organoclorados en fauna silvestre (⁴⁰⁶Koeman *et al.*, 1969; ⁴⁰⁷Bogan y Bourne, 1972; ²⁶Furness, 1993). Los compuestos organoclorados se acumulan a lo largo de toda la vida de los seres vivos, produciéndose en ellos un efecto de biomagnificación, de manera que aquellos que se encuentran en la parte más alta de la cadena trófica, almacenarán una mayor cantidad de estos compuestos (⁴⁰⁸Maria-Mójica, 1998; ⁴⁰³Van Wyk *et al.*, 2001).

El primer insecticida organoclorado, el DDT, fue sintetizado en 1874 por Zeidler, pero no fue hasta 1939 que P.H. Müller descubrió y patentó el compuesto por sus importantes propiedades insecticidas sobre todo en el campo de la salud pública (lucha antivectorial en enfermedades como la malaria y la fiebre amarilla; ⁴⁰⁹Dikshith, 1991). Sin embargo, el principal uso de los OC ha sido básicamente agrícola. Fue durante la Revolución Verde tras la Segunda Guerra Mundial cuando se extendió su uso debido a que, a pesar de su gran letalidad para los insectos, la toxicidad en humanos y otros vertebrados era aparentemente baja. A esto se añadía su bajo coste y estabilidad (²⁶Furness, 1993). Por esta razón se hicieron grandes esfuerzos por sintetizar y desarrollar nuevos compuestos OC.

Dada su naturaleza química y elevada persistencia tanto en el medio ambiente como en los seres vivos, la mayoría de estas sustancias han causado importantes efectos perniciosos. El impacto de estos compuestos fue de tal magnitud, que algunos autores consideran que probablemente ningún otro grupo de contaminantes de origen antropogénico ha supuesto un coste tan elevado para medio ambiente como lo han hecho los OC (⁴¹⁰Blus, 2003). Estos compuestos son considerados por algunos autores (⁴¹¹Newton *et al.*, 1993) como los compuestos que más daño han causado a la fauna silvestre.

Los OC pueden ser divididos en cinco grupos (⁴¹²Smith, 1991): DDT y análogos, hexaclorociclohexano (HCH), ciclodienos y compuestos similares, toxafeno y compuestos relacionados, y estructuras tipo mirex y clordecona.



III.4.2.1 INSECTICIDAS ORGANOCORADOS.

Los plaguicidas organoclorados estudiados en la presente memoria se pueden clasificar en tres grupos: difenilalifáticos (DDT y análogos), isómeros del hexaciclohexano y derivados ciclodiénicos.

▪ Compuestos Difenilalifáticos

El dicloro-difenil-tricloroetano o DDT (figura III.1-a) es un compuesto poco volátil, insoluble en agua pero soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos apolares y aceites de petróleo. El DDT técnico empleado en las formulaciones se encuentra en mezcla de varios isómeros, siendo el isómero *p,p'*-DDT (*p,p'*-diclorodifenil-1,1,1-tricloroetano) el más abundante.

Tras el del DDT se procedió a la síntesis de numerosos análogos de esta molécula menos tóxicos para mamíferos pero con gran efecto insecticida (el DDD, el metoxicloro, el dicofol y el clorobenzilato) (Yu, 2008).

El DDD o dicloro-difenil-dicloroetano (Figura III.1-c), también llamado tetraclorodifeniletano o TDE, es un importante metabolito del DDT con acción insecticida, por lo que lo podemos encontrar como tal en los productos comerciales. Sus propiedades de solubilidad son similares al DDT.

El DDE o dicloro-difenil-dicloroetileno (Figura III.1-b), también metabolito del DDT, es resultado de la degradación por hidroclicación del DDT en los seres vivos. Es insoluble en agua y soluble en los disolventes orgánicos, pero no presenta acción insecticida.

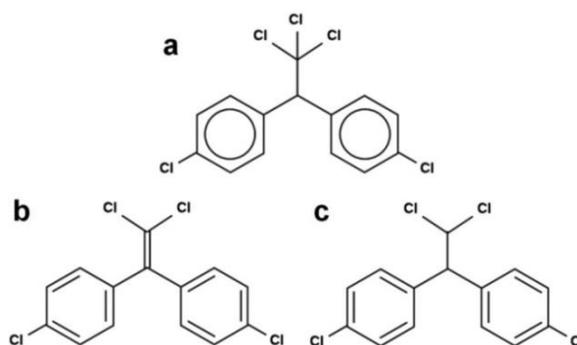


Figura III.1. Estructura química del DDT (a), DDE (b) y DDD (c).
(Fuente: GeoScienceWorld)

Tanto el DDT como el DDD y el DDE son compuestos altamente persistentes en el medio ambiente, pudiendo permanecer en los suelos hasta 10-15 años después de su aplicación (⁴¹³Keller, 1970).



El DDT es considerado el primer insecticida moderno. Su uso en el campo de la salud pública fue fundamental para la lucha contra el paludismo, llegando a casi su erradicación en ciertos países (⁴¹⁴WHO, 2001). La aparición de resistencias en los insectos y efectos adversos de tipo crónico sobre la salud, ha dado lugar a severas restricciones y en algunos casos prohibición en multitud de países. De esta forma, en los países de la Unión Europea se prohibió el uso del DDT en la agricultura (⁴¹⁵Reglamento CE nº 850/2004) aunque esta norma jurídica permitía la producción y uso en sistemas cerrados y limitados a un emplazamiento para la producción de dicofol hasta enero de 2014. En otros países, en base al Convenio de Estocolmo, el uso del DDT está actualmente restringido y sólo se permite en la lucha contra el vector de la malaria en aquellos países afectados, siendo India el principal país consumidor (⁴¹⁶Van den Berg, 2009).

Dado que el dicofol suele contener residuos de DDT y de sus metabolitos, la presencia de DDT en el medio ambiente, en los últimos años, se ha atribuido a la aplicación del dicofol (¹⁶García-Fernández *et al.*, 2008). En 2008 había registrados en España 34 productos cuya concentración de dicofol oscilaba entre 3 y 43% (⁴¹⁷MAPA, 2008). Ese mismo año se prohibió la producción de este producto en el último centro industrial que lo fabricaba en nuestro país. En la actualidad no existe ningún producto con este principio activo registrado en España.

▪ Isómeros del hexaclorociclohexano

El hexaclorociclohexano (1, 2, 3, 4, 5, 6-hexaclorociclohexano, HCH), también conocido como hexacloruro de benceno (BHC), fue sintetizado por vez primera en 1942. El HCH técnico consiste en una mezcla de 5 isómeros (α , β , γ , δ y ϵ) (figura III.2), en la proporción de 65-70% de α , 6-8% de β , 12-15% de γ , 2-5% de δ , 3-7% de ϵ y otros en 2-3%, de los cuales sólo el isómero γ (lindano) posee una marcada actividad insecticida.

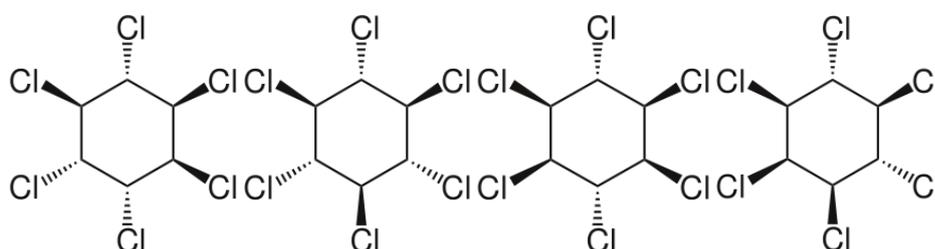


Figura III.2. Estructura química de los isómeros α , β , γ , δ y ϵ de HCH.

(Fuente: Wikimedia Commons)

El característico olor a humedad que transfiere a los productos alimenticios sobre los que se usa esta mezcla de isómeros es lo que restringió su uso, aplicándose principalmente a cultivos industriales. Actualmente prohibido en Europa, se estuvo utilizando de forma controlada como mezcla de isómeros hasta 2007 en nuestro país (⁴¹⁸Calvelo, 2008).



Cuando estaba autorizado, se buscaba conseguir productos con cada vez más concentración del isómero- γ (lindano), el cual pierde esta cualidad. Además el lindano se aplicaba en ámbitos diversos, tanto domésticos como agrícolas en el tratamiento de suelos, ya que se degradaba rápidamente (⁴¹⁹Copeland y Chadwick, 1979) transformándose en γ -pentaclorociclohexano, el cual tiene una acción insecticida unas mil veces inferior al lindano. El lindano es generalmente menos tóxico pero más efectivo que otros organoclorados aplicados en semillas (⁴²⁰Carnaghan y Blaxland, 1957; ⁴²¹Turtle *et al.*, 1963).

Tras la ingestión, el lindano se metaboliza rápidamente produciendo clorofenoles y clorobencenos, compuestos más hidrosolubles y más fácilmente eliminables, por lo que presenta una vida media en huevos y tejidos de aves más corta que otros insecticidas. Probablemente debido a ello, el lindano no se ha relacionado con problemas de poblaciones de aves silvestres (⁴²²Blus *et al.*, 1984). No obstante, en estudios experimentales si se han observado efectos negativos sobre la reproducción en las aves (⁴²³Sauter y Steele, 1972).

▪ Derivados ciclodiénicos

Conforman este grupo una serie de hidrocarburos clorados cíclicos que contienen un puente de metileno interno. Ejemplos de dicho grupo son algunos insecticidas importantes como clordano, heptacloro, aldrin, dieldrín, endrín y endosulfán. Entre ellos encontramos dos pares de estereoisómeros: Aldrin-isodrín y dieldrín-endrín (⁴⁰⁹Dikshith, 1991).

Debido a su elevada persistencia en suelos y su elevada presión de vapor este grupo de insecticidas fue muy utilizado en el tratamiento de suelos y contra termitas. Todos fueron prohibidos en Europa (⁴²⁴Directiva 79/117/CEE) y únicamente el endosulfán se permitió hasta 2007 merced a su menor persistencia en el medio (⁴²⁵Decisión 2005/864/EC). Era un insecticida muy polivalente que, en España, estuvo autorizado en un gran número de cultivos como cítricos, frutales, olivo, viñedo, avellano, maíz, patata, espárrago, alfalfa, algodón, sorgo, caña de azúcar, y ornamentales (⁴²⁶Barberá, 1989).

El **aldrín** (figura III.3) es insoluble en agua, soluble en la mayoría de solventes orgánicos y moderadamente en aceite. En los animales se metaboliza rápidamente convirtiéndose en su epóxido dieldrín (⁴²⁷Bann *et al.*, 1956; ⁴²⁸Cohen y Smith, 1961) de igual modo que sucede en el suelo (⁴²⁹Bollen *et al.*, 1958). Por ello su toxicidad es básicamente la del dieldrín (⁴⁰⁹Dikshith, 1991). Solo es detectable en tejidos de reciente exposición.

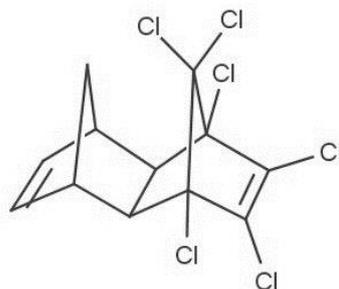


Figura III.3. Estructura química del aldrín
(Fuente: ECHA - European Chemical Agency)

El **dieldrín** (figura III.4) es uno de los plaguicidas más persistentes que se conocen. Solo se descompone tras la acción de ácidos fuertes a largas exposiciones a radiaciones ultravioleta. Presenta cualidades similares al aldrín y solo ha demostrado ser más tóxico que su precursor en los peces. Se considera que los mamíferos son más sensibles a la intoxicación por esta sustancia que las aves (⁴³⁰Peakall, 1996).

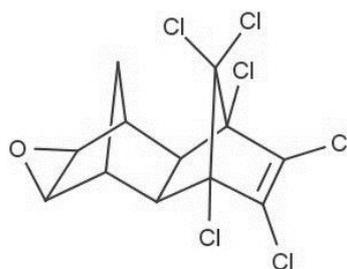


Figura III.4. Estructura química del dieldrín
(Fuente: ECHA - European Chemical Agency)

El **1,4,5,6,7,8,8,-heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-metanoindano** (figura III.5) es un insecticida obtenido por aislamiento del clordano tecnológico. Su toxicidad en mamíferos es de 4 a 5 veces mayor que la del clordano. Es muy poco soluble en la mayoría de solventes orgánicos y es el menos soluble en agua. Se une fácilmente a las partículas sólidas en suspensión y se evapora lentamente. Su transformación en medio en epóxido lo hace más tóxico que el compuesto original (⁴³¹Matsumura, 1985). Este epóxido, permanece en suelo y agua durante muchos años, biomagnificándose a través de la cadena trófica.

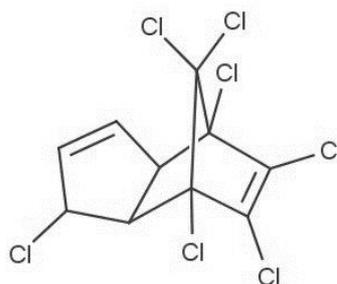


Figura III.5. Estructura química del heptacloro
(Fuente: ECHA - European Chemical Agency)



El **hexaclorobenceno (HCB)** (figura III.6) es un fungicida que se introdujo por primera vez en 1945 para el tratamiento de semillas de cebollas, sorgo y cultivos de cereales. Su uso como fungicida en España está prohibido desde 1994 (⁴³²B.O.E. nº 41, 1994) y en los países firmantes del Convenio de Estocolmo (⁴³³UNEP, 2001). Actualmente este compuesto se considera ubicuo, ya que se encuentra presente en casi todos los compartimentos del medio ambiente (⁴³⁴Barber *et al.*, 2005).

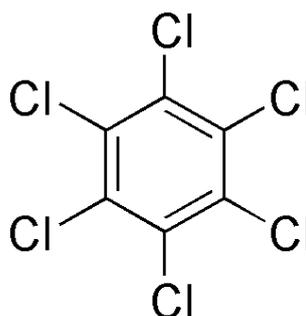


Figura III.6. Estructura química del HCB
(Fuente: ECHA - European CHemical Agency)

El HCB detectado en la atmósfera en la actualidad debe tener su origen en su utilización (⁴³⁵Bailey, 2001), o pueden deberse a un origen industrial (⁴³⁶Arrebola *et al.*, 2009), a la aplicación de plaguicidas con trazas de HCB o a la liberación en vertederos de los productos que lo contengan. En procesos de combustión (incendios) y procesos químicos que utilicen cloro como intermediario también puede ser liberado a la atmósfera (⁴³⁷Breivik *et al.*, 2004; ⁴³⁸Jacoff *et al.*, 1986).

III.4.2.2 . BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs).

Los bifenilos policlorados son un grupo de compuestos químicos orgánicos clorados (organoclorados) de muy alta estabilidad, no corrosivos y de muy baja inflamabilidad. Se elaboraron por primera vez, en 1929 a escala comercial. Las formulaciones comerciales fueron vendidas bajo una serie de nombres siendo el Arochlor el más común (⁴³⁹Hoffman *et al.*, 1996). Se han utilizado para multitud de aplicaciones, principalmente como fluidos dieléctricos en condensadores, transformadores y sistemas hidráulicos y de intercambio de calor, aunque también en la formulación de aceites lubricantes, pinturas, pesticidas, tintes, ceras o plásticos. Como quiera que en el pasado las emisiones de PCBs no estaban sujetas a restricciones por el desconocimiento que se tenía sobre su toxicidad, éstos se liberaron al medio de forma deliberada, aplicándose directamente en carreteras con el fin de impedir la dispersión de polvo, o incluyéndose como aditivos en algunas formulaciones de insecticidas (⁴⁴⁰Hoffman *et al.*, 2001). En la mayoría de los países su uso fue restringido prohibido a partir de los años 70 cuando se evidenció que la exposición crónica podría



entrañar riesgos para la salud humana y del medio ambiente (⁴⁴¹Rice *et al.*, 2003). Solo España y Francia mantuvieron su producción hasta 1995 (⁴⁴²Holoubek, 2001).

A pesar de que todos los residuos de PCBs deberían haber sido eliminados o descontaminados en España antes de 2011 (⁴⁴³Resolución del 9 de Abril de 2001; ⁴⁴⁴B.O.E. 48/2006), existe una excepción que permite el uso de equipos que contienen PCBs, principalmente transformadores y condensadores eléctricos hasta 2025 (⁴³³UNEP, 2001; ⁴¹⁵Reglamento (CE) nº 850/2004).

Su estructura química consiste en un núcleo bifenilo formado por dos anillos de benceno unidos por un enlace simple C-C (figura III.7). Se denominan policlorados porque un número variable de 1 a 10 átomos de cloro sustituyen el mismo número de átomos de carbono del bifenilo, dando lugar a 209 congéneres distintos, de los cuales únicamente entre 100 y 150 han sido utilizados y pueden encontrarse en el medio (Rice *et al.*, 2003).

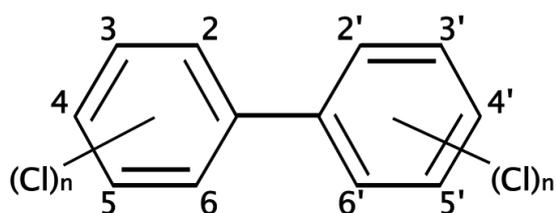


Figura III.7. Estructura química de los PCBs
(Fuente: <http://www.trediargentina.com.ar>)

Los podemos clasificar en PCBs de eliminación rápida, que suelen mostrar baja persistencia y bioacumulación (⁴⁴⁵Hansen *et al.*, 1983; ⁴⁴⁶Hansen, 1987; ⁴⁴⁷Norstrom, 1988; ⁴⁴⁸Guruge y Tanabe, 1997), parecen metabolizarse rápidamente y se eliminan principalmente como metabolitos (⁴⁴⁹Bunyan y Page, 1978; ⁴⁵⁰Brunn, 1984). Los PCBs persistentes tienden a presentar tasas de eliminación mucho más lentas, se pueden eliminar como metabolitos o sin metabolizar y muestran elevados factores de bioacumulación en las poblaciones de aves silvestres. La eliminación no biliar en heces y la transferencia a huevos constituyen otras vías importantes de eliminación de PCBs sin metabolizar, aunque falta información para determinar su importancia (⁴⁵¹Drouillard, 2000). La hidroxilación de los PCB's por la acción del citocromo P450 monooxigenasa que se traduce en la formación de OH-PCB's es realizada en el organismo para facilitar su detoxificación. No obstante la influencia de este metabolito en la homeostasis de las hormonas tiroideas puede suponer un problema añadido de la toxicidad de estos compuestos (⁴⁵²Kunisue y Tanabe, 2009). Por otro lado, tampoco la actividad del citocromo P450 es igual de efectiva en todas las especies de aves marinas para la metabolización y eliminación de los distintos congéneres de PCB's (⁴⁵³Borgå *et al.*, 2005).



III.4.2.3 CINÉTICA DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES (COPs).

La principal vía de entrada en las aves es a través de la ingesta de alimentos contaminados, no obstante, las vías respiratoria y cutánea son también importantes. Dietas ricas en fibra o grasas, así como comidas copiosas influyen sobre su absorción a nivel intestinal (⁴⁵⁴Heath y Vandekar, 1964; ⁴⁵⁵Dean y Ma, 2007). Así por ejemplo, el DDT se absorbe hasta 10 veces más a nivel gastrointestinal si está disuelto en grasas independientemente de su naturaleza (⁴⁵⁶Keller y Yeary, 1980; ⁴⁵⁷Palin *et al.*, 1982), al aumentar su solubilidad por incorporarse al interior de moléculas anfipáticas de gran superficie (⁴⁵⁸Smith *et al.*, 2012). La importancia y la eficiencia de la absorción dérmica varían en función de los diferentes compuestos. De esta forma, el DDT es poco absorbido vía dérmica, mientras que el dieldrín es absorbido de manera efectiva por la piel (⁴⁵⁹Smith, 2004).

Su distribución en sangre hacia los distintos órganos variará en función del grado de irrigación de los tejidos y de la relativa afinidad de los compuestos por los componentes de la sangre (⁴⁵¹Drouillard, 2000). ⁹¹Norstrom (2002), comprobó en un estudio experimental con aves que los COPs alcanzan rápidamente un equilibrio entre las fracciones lipídicas plasmáticas y los tejidos grasos. Por tanto, una mayor demanda de dichas reservas grasas debido a necesidades fisiológicas (migración, ovoposición, periodos de ayuno durante la muda, etc.), pueden movilizar y redistribuir de nuevo en sangre los COPs allí almacenados (⁴⁶⁰Henriksen *et al.*, 1996).

Estas sustancias poseen propiedades bioacumulativas, debido a sus características físico-químicas, y se eliminan con dificultad del organismo. De esta manera pueden provocar una acción tóxica crónica en el individuo. Aunque la bioacumulación de estos compuestos puede ser explicado parcialmente por sus características lipofílicas, existen otros factores a tener en cuenta como son la estructura química que presentan, la competencia con los lugares de unión en los tejidos y el ratio metabolismo/excreción (⁴⁶¹Bickel, 1984; ⁴⁵⁹Smith, 2004). Dependiendo de su polaridad, estos compuestos presentan afinidad por unos u otros tejidos. Así compuestos más polares tienen mayor afinidad por tejidos ricos en fosfolípidos como es el caso del sistema nervioso central (⁴⁶²Kawai *et al.*, 1988). DDT y DDE tienen gran afinidad por el tejido adiposo. También en el tejido adiposo se almacena el 90% de los PCBs de organismo (⁴⁶³Subramanian, 1986; ⁴⁶⁴Borlakoglu *et al.*, 1991), aunque también puede acumularse y por ende afectar a SNC, hígado, riñón y adrenales (⁴⁵⁹Smith, 2004).

Una vez en su interior, el organismo intenta convertir estas sustancias en otras menos lipofílicas y más polares para favorecer su eliminación a través de reacciones de biotransformación como las reacciones de oxidación. Pueden ser metabolizados por el



sistema microsomal citocromo P 450 a derivados hidroxílicos, por dehidrocloración como ocurre en el caso del lindano, o por conversión a epóxidos más estables como es el caso de la formación del dieldrín desde el aldrin (⁴⁵⁹Smith, 2004). En otras ocasiones son metabolizados mediante la conjugación con glutatión o la formación de glucourónidos. La mayoría de las reacciones de biotransformación se produce a nivel hepático. Sin embargo, en algunos organismos también son importantes las reacciones que tienen lugar en pulmón, intestino, piel y riñón (⁴⁰⁸Maria-Mojica, 1998). En general, los grupos alquilo (excepto el metilo) se metabolizan más fácilmente que los anillos aromáticos en los animales terrestres. En los compuestos con múltiples anillos aromáticos, como los bifenilos y difeniléteres, el ataque a las posiciones meta/para se ve favorecido respecto al orto/meta (⁴⁶⁵Boon *et al.*, 1992; ⁴⁶⁶Walker, 1992). En los congéneres de PCBs, aquellos que presentan el átomo de cloro en las posiciones 2 y 6 (orto) son generalmente más rápidamente metabolizados en humanos, mientras que aquellos con los átomos en posición 4 y 4' (para) o posición 3, 4 ó 3, 4, 5 en uno o ambos anillos tienden a ser más tóxicos y a ser retenidos en los tejidos (⁴⁶⁷Eisler, 1986).

Los compuestos originales se eliminan principalmente por la vía biliar y fecal, produciéndose en ocasiones su reabsorción en intestino y transporte a hígado y riñón, órganos donde tendrá lugar su biotransformación (⁴⁵⁹Smith, 2004). Los metabolitos con alta polaridad (conjugados glucurónicos) se eliminarán por la orina. Otra vía de eliminación a tener en cuenta es la láctea. La presencia de estos compuestos en la leche está determinada por su alto contenido lipídico (3-5%) y el alto flujo sanguíneo que llega al tejido mamario durante la lactancia (⁴⁶⁸Jensen, 1983; ⁴⁶⁹Gobas *et al.*, 2003; ⁴⁷⁰Wong *et al.*, 2005; ⁴⁷¹Lignell *et al.*, 2009).

Otra vía de excreción es a través de la puesta de huevos en aves (⁴⁷²Bargar *et al.*, 2001; ⁴⁷³Ross *et al.*, 2008; ⁴⁷⁴Van den Steen *et al.*, 2009), peces (⁴⁷⁵Svendsten *et al.*, 2007) y reptiles (⁴⁷⁶Alava *et al.*, 2006). La transferencia de lípidos al huevo durante su formación supone una importante vía de eliminación de COPs del organismo de la hembra adulta. Como consecuencia, el embrión en formación se verá expuesto a estos contaminantes de origen materno (⁴⁵¹Drouillard, 2000), alcanzando la máxima exposición en el momento de eclosionar o poco tiempo después, cuando los lípidos del saco vitelino se hayan absorbido completamente (⁴⁷⁷Drouillard *et al.*, 2003). Se ha comprobado de forma experimental como los huevos puestos en primer lugar tienen mayores concentraciones de PCBs que los de puestas de reposición (⁴⁷⁴Van den Steen, 2009). Otras vías complementarias de eliminación de COPs son el pelo (⁴⁷⁸Matthews *et al.*, 1976) y, en las aves, las plumas (⁴⁷⁹Espín *et al.*, 2010; ¹¹¹García-Fernández *et al.*, 2013) y las secreciones de la glándula uropígea (⁴⁸⁰van den Brink *et al.*, 1998).



III.4.2.4 FACTORES QUE AFECTAN A LA TOXICIDAD DE LOS COPs.

Factores tanto intrínsecos como extrínsecos condicionan la toxicidad de estos compuestos en los organismos vivos, aunque los primeros son los más importantes cuando hablamos en términos de susceptibilidad individual (⁴⁰⁹Dikshith, 1991).

▪ Sexo

La actividad de las enzimas microsomales hepáticas depende en gran medida del sexo (⁴⁸¹Parkinson *et al.*, 2004; ⁴⁸²Waxman y Holloway, 2009). Dicha actividad es generalmente más alta en el macho que en la hembra en los animales inmaduros (⁴⁸³Conney y Bubns, 1962; ⁴⁸⁴Kamataki *et al.*, 1985). Son muchos los autores que han encontrado diferencias entre sexos, hallando niveles de COPs más altos en machos (⁴⁸⁵Tanabe *et al.*, 1989; ⁹⁰Donaldson *et al.*, 1999; ⁴⁸⁶Wienburg y Shore, 2004, ⁴⁸⁷Pinzone *et al.*, 2015), lo que podría explicarse también, en las aves, por la transferencia de importantes concentraciones a los huevos en época de puesta (⁴⁷²Bargar *et al.*, 2001).

▪ Edad

Se pensaba que la edad de un animal era el factor más importante relacionado con la susceptibilidad ante los plaguicidas (⁴⁰⁹Dikshith, 1991) y en distintos estudios sobre rapaces se demostró que las concentraciones de organoclorados aumentaban con la edad del animal (⁴⁸⁸Stendellet *al.* 1989; ⁴⁸⁹María-Mojica, 1996; ⁴⁸⁶Wienburg y Shore, 2004). En cambio, se ha evidenciado que, en general, en el transcurso de un año, las concentraciones de COPs llegan a alcanzar un equilibrio entre el organismo y el medio, en el que la absorción es equivalente a la eliminación (⁴⁵¹Drouillard, 2000). Este equilibrio suele alcanzarse, en las aves, con la madurez sexual (⁴⁹⁰Elliott y Shutt, 1993; ⁴⁹¹Bustnes *et al.*, 2003), momento a partir del cual la acumulación de COPs se supone independiente de la edad del animal.

Las aves en estado embrionario son especialmente sensibles, ya que los productos del metabolismo de los compuestos organoclorados no pueden ser excretados y permanecen en el torrente sanguíneo durante todo el proceso de incubación (³⁶⁸Fry, 1995).

▪ Especie

Se ha demostrado en distintos estudios que aquellas especies con dietas más especializadas muestran menor actividad monooxigenasa necesaria para el metabolismo de xenobióticos lipofílicos (⁴⁹²Walker *et al.*, 1987; ⁴⁹³Fossi *et al.*, 1995).

Por otro lado, distintos estudios laboratoriales demostraron que las aves rapaces son menos sensibles a los PCBs que las Codornices (*Coturnix coturnix*), o las Gallinas (*Gallus*



gallus) (^{494,495}Elliot *et al.*, 1990,1997), pero más sensibles que el Charrán común (*Sterna hirundo*) (⁴⁹⁶Hoffman *et al.*, 1998).

▪ Alimentación

Las variaciones en cuanto a los niveles de residuos PCBs en las mismas especies entre áreas geográficas distintas han sido atribuidas a los hábitos alimenticios por diversos autores (⁴⁹⁷Hoshi *et al.*, 1998; ⁴⁰⁵Konstantinou *et al.*, 2000). ⁴⁹⁸Kunisue *et al.* (2002) observaron que los niveles de OC más elevados se daban en aves piscívoras, seguidas de las insectívoras, omnívoras y herbívoras. Otros estudios demuestran que las especies que se alimentan de peces y aves son las más afectadas por los OC y sufren declives poblacionales por detrimento de la reproducción a largo plazo o mortandades en intoxicaciones agudas (⁴⁹⁹Prestt *et al.*, 1970; ¹²Newton y Bogan, 1974; ¹³²Henny y Elliott, 2007). También se ha comprobado que conforme se consumen presas situadas en las partes más altas de la cadena trófica se incrementan las concentraciones de PCBs y DDE en Pigargo americano (⁵⁰⁰Elliot *et al.*, 2009).

La disponibilidad de recursos alimenticios también puede tener influencia sobre la toxicidad de los compuestos organoclorados. De hecho se comprobó cómo existía una correlación negativa entre la concentración de COPs presente en las hembras reproductoras de Skuas (*Stercorarius skua*) y la condición física de sus pollos, excepto en aquellos nidos cuya alimentación era suplementada artificialmente (¹⁴Bustnes *et al.*, 2015).

▪ Condición corporal

La movilización de compuestos organoclorados a partir de los depósitos grasos corporales y su relación con las concentraciones tisulares ha sido ampliamente estudiado (⁴⁶³Subramanian *et al.*, 1986; ⁵⁰¹Lambeck *et al.*, 1991; ⁵⁰²Elliot *et al.*, 1996; ⁵⁰³Kenntner *et al.*, 2003; ⁴⁸⁶Wienburg y Shore, 2004). En gavilanes, cernícalos y garzas que murieron en Reino Unido en la década de los 90, las concentraciones de PCBs en individuos con poca o ninguna reserva grasa corporal eran hasta 30 veces superiores que en los individuos no emaciados de la misma edad y sexo (⁴⁸⁶Wienburg y Shore, 2004). Esto se debe a que, durante situaciones de emaciación, las reservas grasas se movilizan y junto a ellas los contaminantes almacenados, los cuales se redistribuyen vía sanguínea hasta órganos de gran actividad metabólica como el hígado (⁵⁰⁴Bogan y Newton, 1977; ⁵⁰²Elliot *et al.*, 1996).



▪ Factores extrínsecos

Tanto las propiedades físico-químicas de la sustancia, como su concentración en el producto comercial, el modo de aplicación y la ruta de exposición son algunos factores que también podrían influir en la toxicidad producida por los COPs. Humedad y temperatura ambiental también influyen en su absorción (⁴⁰⁹Dikshith, 1991). Estudios experimentales demuestran que los organoclorados persisten más tiempo en el medio ambiente cuando las temperaturas son más bajas (⁵⁰⁵Ólafsdóttir *et al.*, 2005). También la capacidad de actuar de forma sinérgica, como lindano y heptacloro, o antagonizarse debe ser tenido en cuenta (⁵⁰⁶OMS, 1992).

Se ha observado que la falta de recursos alimenticios, asociada a determinados niveles de organoclorados, tiene efectos sobre el éxito reproductivo en aves rapaces (⁵⁰⁷Gervais y Anthony, 2003)

III.4.2.5 . TOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN LAS AVES.

La sociedad tomó conciencia de los efectos que los insecticidas organoclorados tenían sobre las aves silvestres poco tiempo después de comenzar a utilizarlos como insecticidas. En un principio se evidenciaron efectos de toxicidad aguda, manifestada por mortandades de aves silvestres debido al uso masivo de estos compuestos. Ya a mediados de los años 40, estudios de campo demostraban que tras la aplicación de grandes cantidades de DDT se producía una reducción inmediata de la población de pájaros cantores y algunos invertebrados del bosque (²¹Hotchkiss y Pough, 1946). En la actualidad de sobra es conocido que la elevada persistencia de compuestos como el DDT no sólo puede observarse inmediatamente tras su aplicación sino también muchos años después (⁵⁰⁸Blus, 1996). En el caso de los PCBs, el hallazgo de altos niveles en Gaviotas hiperbóreas (*Larus hyperboreus*) enfermas o agonizantes se relacionó con el uso de estos compuestos (⁵⁰⁹Gabrielsen *et al.*, 1995; ⁵¹⁰Henriksen *et al.*, 2000). Hoy en día sabemos que exposiciones crónicas no letales a compuestos organoclorados son capaces de afectar la supervivencia y productividad de poblaciones silvestres (⁵¹¹Sharma *et al.*, 1977).

Existe una gran dificultad para diferenciar los efectos de cada uno de los compuestos en exposiciones de tipo crónico y más cuando en la mayoría de las ocasiones varios de ellos son detectados en un mismo organismo. Es por esto que vamos a proceder a estudiarlos de manera conjunta.



▪ Alteraciones sobre el éxito reproductor en las aves

Los efectos adversos sobre los parámetros reproductivos en las aves debido a estos compuestos se vienen observando desde los años 40 y comenzaron con el uso masivo del DDT como insecticida (⁵⁰³Kenntner *et al.*, 2003). De hecho, multitud de declives poblacionales en aves han sido relacionados con fracasos reproductivos producidos por este tipo de compuestos (³⁶⁷Mora *et al.*, 1993; ³⁶⁸Fry, 1995; ¹³²Henny y Elliott, 2007).

En aves adultas, se han constatado mortandades, aumento de estrés, alteración en el número de huevos y en el grosor de la cáscara, alteraciones del comportamiento (cortejo, incubación, cuidados parentales, etc.) (³⁶⁸Fry, 1995; ⁵¹²Fisher *et al.*, 2001). Ciertos autores han estudiado los niveles de organoclorados, el grosor de la cáscara de huevo y su relación con el éxito reproductivo. Los primeros en documentar esta relación con dietas de DDE en aves fueron ⁵¹³Heath *et al.* (1969). ⁵¹⁴Mason *et al.* (1997) encontraron una correlación negativa entre los valores de DDE y el grosor de la cáscara de huevos con valores de 0.183 µg/g. ⁵¹⁵Wiemeyer *et al.* (1988) describieron que un 15 a 20% de adelgazamiento de la cáscara estaba asociado con 4,2 y 8,7 µg/g (peso húmedo), respectivamente, de DDE, pero no encontraron asociación con la concentración de PCBs. ⁵¹⁶Gonzalez e Hiraldo (1988) comprobaron como este adelgazamiento podía estar relacionado con alteraciones estructurales de la misma cuando estudiaban huevos de Águila imperial (*Aquila adalberti*). Así, constataron como concentraciones de DDE de 2,19 µg/g peso fresco en huevos, se manifestaron con un adelgazamiento de la cáscara de un 12,6%, principalmente por la disminución del grosor de la capa mamilar. También encontraron diferencias en la cristalización de dicha capa y la aparición de esferulitas sobre la cutícula (concreciones calcáreas de forma globular que eran más frecuentes en huevos con mayores concentraciones de DDE). Por otro lado, se ha descrito la presencia de cavidades en la zona mamilar de la cáscara en Halcones de cola roja (*Buteo jamaicensis*), por la exposición a diferentes contaminantes como los PCBs y el DDE (⁵¹⁷Springer, 1980). ⁵¹⁸Helberg *et al.* (2005), en estudios sobre Gaviones (*Larus marinus*) de la costa noruega observaron que las hembras que presentaban altas concentraciones de organoclorados en sangre tenían la puesta más tardía, mayor probabilidad de predación en el nido y un mayor índice de fallo en la eclosión de los huevos.

A nivel embrionario, los problemas detectados consisten en mortalidad embrionaria o fracaso en la eclosión, malnutrición de los pollos e incapacidad de desarrollarse, teratogénesis y alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso por disrupción endocrina (³⁶⁸Fry, 1995). Un claro ejemplo de las alteraciones producidas por compuestos organoclorados durante el desarrollo embrionario es el síndrome conocido como GLEMEDS (Great Lakes embryo mortality, edema and deformity syndrome), que provocó



embriomortalidad, edema y malformación del pico y del esqueleto en embriones y pollos de Pigargo americano (*Haliaeetus albicilla*), cormoranes, gaviotas y charranes de la región de los Grandes Lagos, en Norteamérica (³⁶³Gilbertson *et al.*, 1991). Este síndrome se ha correlacionado con la concentración equivalente tóxica (TEQ) de compuestos “tipo dioxina” (³⁶⁸Fry, 1995). Algunos congéneres de PCBs o el HCB, presentan una estructura similar a la de 2,3,7,8- tetraclorodibenzo-dioxina (2,3,7,8-TCDD) por lo que se denominan compuestos “tipo dioxinas”. Es una estructura coplanar, con uno o ningún átomo de Cl en posición orto, o con 2 átomos de Cl adyacentes en posiciones meta y para. Esta estructura les permite unirse al receptor Ah del mismo modo que las policlorodibenzodioxinas (PCDD) y los policlorodibenzofuranos (PCDF), dando lugar a efectos tóxicos similares, entre los que se incluyen edema, pérdida de peso, alteraciones en hígado y timo, embriotoxicidad, teratogénesis e inmunotoxicidad (⁴⁸⁵Tanabe, 1989).

También se han descrito problemas de embriotoxicidad o malformaciones, sobre todo, en el caso de los congéneres de PCBs (⁵¹⁹Nosek *et al.*, 1993; ⁵²⁰Wiesmüller *et al.*, 2002) siendo los congéneres 77, 126 y 169 los más tóxicos en ese sentido (³⁶⁸Fry, 1995).

En un reciente estudio realizado en diferentes poblaciones de Skuas se comprobó que los pollos de madres con mayores niveles de contaminación nacían más tarde, los nidos tenían un menor número de huevos eclosionados y se comprobó una relación negativa entre la concentración de COPs y la condición física de los pollos (⁵²¹Bustnes *et al.*, 2015).

▪ **Disrupción endocrina**

Disruptor endocrino es una sustancia o mezcla de sustancias exógenas capaces de alterar la función o funciones del sistema endocrino causando efectos adversos sobre la salud de un organismo, su progenie o sus poblaciones. Así pues, estos compuestos pueden actuar disminuyendo o estimulando la producción, secreción, transporte, unión, actividad o eliminación de determinadas hormonas del organismo responsables de mantener la homeostasis orgánica, de la reproducción y/o del comportamiento (⁵²²CSTEE, 1999).

Existen gran cantidad de disruptores endocrinos. Entre los organoclorados, o,p-DDT, dicofol, clordecona, metoxicloro y endosulfán se consideran estrogénicos (⁵²³Bulger *et al.*, 1978; ⁵²⁴Eroschenko y Palmiter, 1980; ⁵²⁵Fry *et al.*, 1981; ⁵²⁶Soto *et al.*, 1992). Algunos metabolitos de los PCBs se comportan de igual forma (⁵²⁷Korach *et al.*, 1988; ⁵²⁸Soontornchat *et al.*, 1994). Este tipo de compuestos cobran gran relevancia en animales en desarrollo, ya que es en ese momento cuando se produce la diferenciación de su sistema reproductor (³⁶⁸Fry, 1995). En condiciones de campo se ha encontrado una relación entre la contaminación por DDT y feminización de gaviotas de California (⁵²⁵Fry y



Toone, 1981), y la inyección de *o,p'*-DDT en huevos fértiles de gaviotas provoca el desarrollo de tejido ovárico y oviductos en embriones machos (⁵²⁵Fry y Toone, 1981; ⁵²⁹Fry *et al.*, 1987; ³⁶⁸Fry, 1995; ⁵³⁰Hoyer, 2001) .

El más importante ejemplo de disrupción endocrina en aves silvestres y posiblemente el más documentados se trata del fracaso reproductivo debido a la disminución del grosor de cáscara del huevo inducido por *p,p'*-DDE (¹⁰Ratcliffe, 1970; ⁵³¹Peakall *et al.*, 1973; ⁵³²Lundholm, 1997) cuyo mecanismo de acción se descubrió algunas décadas más tarde (⁵³³Vos *et al.*, 2000). El *p,p'*-DDE inhibe la síntesis de prostaglandina E2, lo cual se traduce en una disminución de la hormona a nivel de la glándula mucosa de la cáscara y como consecuencia un menor transporte de calcio al interior de dicha glándula (⁵³²Lundholm, 1997).

▪ Alteraciones bioquímicas

Los compuestos organoclorados ejercen efectos tóxicos a nivel hepático y renal, lo cual se ve reflejado en las alteraciones de determinados parámetros bioquímicos sanguíneos. Así, un aumento en los niveles de enzimas como creatin quinasa (CK), aspartato aminotransferasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH) se ha evidenciado en plasma de aves a las que se les administró organoclorados vía oral (⁵³⁴Dieter, 1974, 1975). Otros autores han comprobado, además, un aumento en las concentraciones de calcio, sodio, creatinina, colesterol, albúmina, proteínas totales, urea, fosfato inorgánico, y en los cocientes proteína:creatinina, urea:creatinina y ácido úrico:creatinina así como en la fosfatasa alcalina y la enzima alanino amino transferasa (ALT) (⁵³⁵Sonne *et al.*, 2012). También se ha observado hiperglicemia y disminución de la actividad de la acetil colinesterasa (AChE) (⁵³⁶Garg *et al.*, 2004).

▪ Alteraciones sobre el sistema nervioso y el comportamiento

En las dos últimas décadas se ha incrementado el interés sobre la neurotoxicidad producida por algunos compuestos químicos entre los que se encuentran los organoclorados. Esta capacidad neurotóxica está caracterizada por afecciones al sistema motor, sensorial, cognitivo o autónomo (⁵³⁷Geller *et al.*, 1979; ⁵³⁸Evangelista de Duffard y Duffard, 1996). El mecanismo de acción parece consistir en cambios en la cinética del sodio y potasio en la membrana de células nerviosas, pudiendo estar implicado el transporte del calcio o la actividad de la enzima Calcio- ATPasa (⁵³⁹Woolley *et al.*, 1985; ^{412,459}Smith, 1991, 2004). En el caso de los insecticidas ciclodiénicos, su mecanismo consiste en una inhibición de los receptores GABA (⁵⁴⁰Narahashi, 2001), los principales receptores inhibidores, lo que se traduce en numerosos efectos, incluidas las características convulsiones tónicas (⁵⁴¹Walker, 2003). Por otro lado se ha observado que



cuando huevos de diferentes especies se expusieron a dioxinas o compuestos “tipo dioxina”, se produjo desmientilización de los axones de las células nerviosas (⁵⁴²Henshel, 1998). Por el contrario, la exposición a dieldrín, DDE o PCBs puede causar disminución en los niveles de dopamina, serotonina y norepinefrina en el encéfalo (⁵⁴³Sharma, 1973; ⁵⁴⁴Heinz *et al.*, 1980; ⁵⁴⁵Giesy *et al.*, 1994; ⁵⁴⁶Barron *et al.*, 1995).

La disminución de las habilidades motoras y el retraso del desarrollo cognitivo por la exposición crónica a organoclorados (⁵⁴⁷Blus, 2011), implica que las aves sean más susceptibles de morir por predación, colisionar contra coches, padecer enfermedades o por inanición (⁷⁸Frank y Lutz, 1999).

La disrupción endocrina también puede tener influencia sobre el comportamiento ya que determinadas hormonas como los estrógenos (⁵⁴⁸Adkins-Regan *et al.*, 1994), y las hormonas tiroideas, intervienen en el desarrollo del sistema nervioso del embrión (⁵⁴⁹Morreale de Escobar *et al.*, 2000).

▪ Fenómenos de inmunodepresión

Los agentes infecciosos tienen especial influencia sobre los parámetros poblacionales en los animales silvestres así como en la selección genética de los mismos (⁵⁵⁰Grenfell y Dobson, 1995; ⁵⁵¹Hamilton, 2001). El responsable de la lucha contra este tipo de amenazas bióticas es el sistema inmune y es sabido que algunos contaminantes ambientales pueden llegar a ser inmunotóxicos incrementando, por tanto, la susceptibilidad al padecimiento de enfermedades infecciosas y parasitarias (⁵⁵²Vos y Luster 1989; ⁵⁵³Grasman *et al.*, 1996,).

La exposición a compuestos organohalogenados, concretamente PCBs, DDE y PBDEs provoca alteraciones de la respuesta inmune humoral y celular, en distintas especies de aves (⁵⁵³Grasman *et al.*, 1996; ⁴³⁹Hoffman *et al.*, 1996; ⁵⁵⁴Fernie *et al.*, 2005). De hecho, ⁵⁵⁵Sagerup *et al.* (2000), encontraron una relación positiva entre la presencia de nematodos y las concentraciones hepáticas de distintos organoclorados, sobre todo de congéneres de PCBs.

III.4.2.6 . INTERPRETACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN AVES.

Resulta bastante complejo hacer una correcta interpretación de los resultados obtenidos en las distintos tejidos o muestras de aves, ya que, como se ha mencionado, una de las mayores dificultades del estudio de los animales de vida silvestre es que éstos no se encuentran expuestos a un único compuesto, sino a mezclas de compuestos organoclorados, por tanto, resulta difícil dilucidar qué organoclorado causa el efecto y en qué proporción (⁵⁵⁶Jones y Voogt, 1999; ^{557, 558}Bustnes *et al.*, 2003; 2005).



A continuación se describen concentraciones de los compuestos organoclorados de interés en el presente estudio en huevos de aves prestando especial interés a aves marinas. La interpretación de los resultados para la evaluación del riesgo se centrará en los niveles asociados a fracaso reproductivo. Haremos una separación en el tratamiento entre insecticidas organoclorados y congéneres de PCBs.

▪ **Insecticidas organoclorados**

Uno de los parámetros más estudiados y útiles para la interpretación de los efectos provocados por los residuos insecticidas organoclorados sobre la reproducción es el estudio del grosor de la cáscara del huevo (^{559,92}Martínez-López *et al.*, 2005, 2007; ⁵⁶⁰Gómez-Ramírez *et al.*, 2010). A pesar de que otros factores como la exposición a otros contaminantes así como determinados estados fisiológicos podrían influir, se ha constatado que la exposición a organoclorados, sobre todo DDE, es la causa principal (⁵⁶¹Blus, 2011). Por ejemplo, se ha relacionado concentraciones de 1 µg/g (peso húmedo) de DDE en huevos con una pérdida entre 5 y 10% de grosor (⁵⁶²Risebrough, 1972; ⁵⁶³Blus *et al.*, 1979), por encima de 2 µg/g una disminución del 15% (⁹²Martínez-López *et al.*, 2007) y valores de 100 µg/g con una disminución del 40% (⁵⁶⁴Blus *et al.*, 1974;). También, ⁵⁶⁵Gómez-Ramírez *et al.* (2012), encontraron una disminución del 17% con concentraciones de 100 ng/g (peso lípidos), en huevos. Este efecto es de crucial importancia para la conservación de las especies, ya que se estima que si la disminución del grosor de cáscara de $\geq 18\%$ persiste durante varios años, se pueden producir declives poblacionales (⁵⁴⁷Blus, 2011). Esta disminución del grosor se traduce en que la dureza de la cascara se ve comprometida, afectando ambos parámetros a la productividad y, por tanto, al éxito reproductivo (⁴²²Blus, 1984; ⁵⁶⁶Henny y Bennett, 1990). De hecho, ⁵⁶⁷Clark *et al.* (1998) concluyen, que valores de 12 a 18 µg/g en huevos de Pigargo americano están relacionados con un detrimento de la productividad del 50 y 75%, respectivamente.

Otro organoclorado que puede influir sobre la supervivencia y eclosión en aves es el HCB (⁵⁶⁸Schwetz *et al.*, 1974; ⁵⁶⁹Reed *et al.*, 1977) el cual está relacionado con problemas reproductivos en poblaciones silvestres (⁵⁷⁰Gilbertson y Reynolds, 1972; Jarman *et al.*, 1996). Según ^{571,572}Henny *et al.*, (1983, 1984), valores de HCB de 1,49 y 2,4 µg/g en huevos de Búho chico (*Asio otus*) y Cernícalo americano respectivamente, están asociados a descenso de la productividad.

En la tabla III.6 se recopila niveles de insecticidas organoclorados encontrados en huevos de distintas especies de aves silvestres, mientras que en la tabla III.7 los niveles se relacionan con efectos adversos.

Tabla III.6. Concentraciones de compuestos organoclorados en huevos (ng/g) de diversas aves silvestres.

Especie	α -HCH	β -HCH	Lindano γ -HCH	HCB	Dieldrín (HEOD)	DDT	DDE	TDE (DDD)	Referencia
Garceta común (<i>Egretta garzetta</i>)	3	4.8	4		7	42	30	79	¹¹³ Fasola <i>et al.</i> ,1998 (peso húmedo)
Martinete (<i>Nycticorax nycticorax</i>)	2.6	6	3		8	47	14	52	¹¹³ Fasola <i>et al.</i> ,1998 (peso húmedo)
					20		82	160	¹¹³ Fasola <i>et al.</i> ,1998 (peso húmedo)
Cormorán grande (<i>Phalacrocorax carbo</i>)	0,3 (n=77)	74.87 (n=77)	2.27 (n=77)			0,71	1,12	124,37	⁵⁷³ Konstantinou <i>et al.</i> ,2000 (peso húmedo)
Azor (<i>Accipiter gentilis</i>)	0.6 (nd-14.6)	3.5 (nd-69.3)	1.7 (nd-110.9)						⁵⁷⁴ Mañosa <i>et al.</i> ,2003 (peso húmedo)
	16 (n=16)	1460 (n=16)	nd (n=16)		257	1975,71	48928,5	1195,7	⁵²⁰ Wiesmüller <i>et al.</i> ,2002 (peso lípidos)
	nd		nd	nd	nd	nd	3172	nd	⁵⁵⁹ Martínez-López, 2005 (peso lípidos)
Ratonero común (<i>Buteo buteo</i>)	1.0 (nd-21.3)	10.7 (nd-2739.5)	1.4 (nd-23.5)						⁵⁷⁴ Mañosa <i>et al.</i> ,2003 (peso húmedo)
Gaviota audouin (<i>Larus audouinii</i>)	nd	nd	0,49-0,87	1,31-2	nd	1,38-1,88	11,54- 21,88	0,15-0,19	⁵⁷⁵ Morales <i>et al.</i> , 2012 (peso húmedo)
							2,4-2,6		González <i>et al.</i> , 1991 (uds. desconocidas)
	1-11 (n=58)	155-309 (n=58)	2-4 (n=58)			18-39 (n=58)	1-11 (n=58)	253-2833 (n=58)	⁵⁷⁶ Goutner <i>et al.</i> ,2001 (peso lípidos)
				80 (n=56)		Σ DDTs (DDT+DDE+DDD)= 4610			⁵⁷⁷ Pastor <i>et al.</i> , 1995 (peso seco)
Gaviota patiamarilla (<i>Larus michaelis</i>)	nd	nd	0,35-0,73	1,17- 2,21	Nd	0,88-1,23	19,31- 27,08	0,07-0,12	⁵⁷⁵ Morales <i>et al.</i> , 2012 (peso húmedo)
Fulmar (<i>Fulmarus glacialis</i>)				330			2800		⁵⁷⁸ Fängström <i>et al.</i> 2005 (peso lípidos)
Gavilán (<i>Accipiter nisus</i>)	nd	448	146.6		150200	3183,3	4480	3566	⁵²⁰ Wiesmüller <i>et al.</i> ,2002 (peso lípidos)
Alcotán (<i>Falco subbuteo</i>)	nd (n=7)	82 (n=7)	nd (n=7)		24900	6274,2	211,66	535	⁵²⁰ Wiesmüller <i>et al.</i> ,2002 (peso lípidos)

Especie	α -HCH	β -HCH	Lindano γ -HCH	HCB	Dieldrín (HEOD)	DDT	DDE	TDE (DDD)	Referencia
Halcón aplomado (<i>Falco femoralis</i>)				25- 57,89			5864- 19372		⁵⁷⁹ Mora <i>et al.</i> ,2008 (peso lípidos)
Buho real (<i>Bubo bubo</i>)	2,17 (n=58)	56,3 (n=58)	2,21 (n=58)	29,34	447,67	41,44	16290,13	30,54	³²² Gómez-Ramirez, 2011 (peso lípidos)
Gaviota del caspio (<i>Larus cachinans</i>)	0,57-3,20 (n=45)	188,16- 473,24 (n=45)	5,80-32,74 (n=45)		0,03 (n=45)		4,54-4,73 (n=45)	619,08-786,25 (n=45)	⁵⁸⁰ Albanis <i>et al.</i> ,2003 (peso lípidos)
Garza imperial (<i>Ardea purpurea</i>)	0,1-1.2	1-7,7	0,4-0,9	4,3-35		3,5-18,1	220-660	3,3-8,8	⁵⁸¹ Huertas <i>et al.</i> , 2015 (peso húmedo)
Arao aliblanco (<i>Cephus grylle</i>)	\sum HCH(α,β,γ)=170			390		\sum DDTs (DDT+DDE+DDD)= 1300			⁵⁸² Vorkamp <i>et al.</i> (2004) (peso lípidos)
Gaviota marfil (<i>Pagophila eburnea</i>)		172,25		714,75	435,66	309,5	17325	6,9	⁵⁸³ Miljeteig <i>et al.</i> ,2009 (peso lípidos)
Gaviota hiperbórea (<i>Larus hyperboreus</i>)				205	216	\sum DDTs (DDT+DDE+DDD)= 3559			⁵⁸⁴ Verreault <i>et al.</i> ,2005 (peso lípidos)
				2254		325	24497		⁵¹⁰ Henriksen <i>et al.</i> , 2000 (peso lípidos)
Arao común (<i>Uria aalge</i>)		7,2-260		260-380			1100- 16000		⁵⁸⁵ Jörundsdóttir <i>et al.</i> , 2009 (peso lípidos)
		600					10000		⁵⁸⁶ Jörundsdóttir <i>et al.</i> , 2006 (peso lípidos)
		170		620			10000		⁵⁸⁷ Bignert <i>et al.</i> ,2008
Águila calzada (<i>Aquila pennatus</i>)	nd	nd		5,13	192,54	nd	11081	26,64	⁵⁵⁹ Martínez-López, 2005 (peso lípidos)
Pigargo Europeo (<i>Haliaeetus albicilla</i>)							160-170		⁵⁸⁸ Helander <i>et al.</i> , 2002. (peso lípidos)

*nd: no detectado; **corrección a peso lípidos utilizando datos del autor.

Tabla III.7. Niveles de organoclorados en huevos asociados a alteraciones reproductivas en rapaces ($\mu\text{g/g}$ en peso húmedo).

Especie	Compuesto	Concentración	Efecto	Referencia
Búho americano (<i>Bubo virginianus</i>)	DDE	5	10% DGR***	⁵⁸⁹ Lincer y Clark, 1978
Lechuza (<i>Tyto alba</i>)	DDE	12	20% DGR*	⁵⁹⁰ Mendenhall <i>et al.</i> , 1983
		41	28% DGR*	
	DDE	> 5,3	12-14% DGR***	⁵⁹¹ Klaas <i>et al.</i> , 1978
Cárabo (<i>Strix aluco</i>)	DDE	3	19% DGC**	⁵⁹² Yoccoz <i>et al.</i> , 2009
Lechuza (<i>Tyto alba</i>)	DDE	>12	75% DPR*	⁵⁹⁰ Mendenhall <i>et al.</i> , 1983
		3-5	NOEL DGC***	⁵⁹¹ Klaas <i>et al.</i> , 1978
Búho americano (<i>Bubo virginianus</i>)	Σ DDTs	3,6	NOEL GC, DPR***	⁵⁹³ Strause <i>et al.</i> , 2007
		12	LOEL GC, DPR, V ***	
Lechuza (<i>Tyto alba</i>)	Dieldrín	12	3% DGC*	⁵⁹⁰ Mendenhall <i>et al.</i> , 1983
		41	5% DGC*	
Halcón peregrino (<i>Falco peregrinus</i>)	Dieldrín	0,7	DP ***	⁵⁹⁴ Newton, 1988
Autillo yanqui (<i>Otus asio</i>)	Endrín	0,27	43% DPR*	⁵⁹⁵ Fleming <i>et al.</i> , 1982
Autillo californiano (<i>O. kennicotti</i>)	Heptacloro- epóxido	3,94	NOEL DP***	⁵⁷² Henny <i>et al.</i> , 1984
Cernícalo americano (<i>F. sparverius</i>)	β -HCH	5,5	NOEL DPR***	⁵⁷¹ Henny <i>et al.</i> , 1983
Búho chico (<i>Asio otus</i>)	HCB	1,49	NOEL DPR***	⁴²² Henny <i>et al.</i> , 1984
Cernícalo americano (<i>F. sparverius</i>)	HCB	2,4	NOEL DPR***	⁵⁷¹ Henny <i>et al.</i> , 1983

*Dato obtenido por exposición experimental; ** Predicción calculada a partir de resultados de campo; *** Dato obtenido en estudios de campo
DGC=disminución del grosor de cáscara; DPR=disminución de la productividad; DP=declive poblacional; V=viabilidad embrionaria; NOEL= nivel sin efecto observable; LOEL= nivel mínimo con efecto observable



▪ Bifenilos policlorados

La evaluación de los efectos reproductivos de los PCBs es algo complejo ya que depende del patrón de congéneres de PCBs, y de sus metabolitos, presentes en cada individuo. Además este patrón puede variar entre ejemplares dependiendo de su localización geográfica en el momento de la exposición. En adición a esto, los PCBs comerciales pueden estar contaminados con otra serie de compuestos como los PCDFs (dibenzofuranos policlorados) que en ocasiones tienen mayor poder tóxico (⁴⁴¹Rice *et al.*, 2003).

En los congéneres de PCBs “tipo dioxina”, debido a que poseen un mecanismo de acción común con la TCDD y compuestos afines (consistente en la unión al receptor Ah), la estimación de la toxicidad de mezclas complejas que contengan este tipo de compuestos se puede realizar utilizando un factor de equivalencia tóxica (TEF, tabla III.8). El TEF expresa la toxicidad relativa de determinados compuestos PCBs en relación a la 2,3,7,8-TCDD a la que se le asigna un TEF de 1. Puesto que se ha evidenciado que los efectos son aditivos, para estimar la toxicidad total de los compuestos “tipo dioxina” en una muestra, se debe utilizar la suma del producto de la concentración de cada congénere por su respectivo TEF, obteniendo TEQ (⁵⁹⁶Safe, 1990; ⁵⁹⁷Van den Berg *et al.*, 1998). Este valor (TEQ) es el utilizado para la estimación del riesgo en animales y seres humanos (⁵⁹⁸Van den Berg *et al.*, 2006; ⁵⁹⁹D.O.U.E. nº 323; ⁶⁰⁰D.O.U.E. nº 364).

Tabla III.8. Valores de TEF para aves (van der Berg *et al.*, 1998).

Congéneres	IUPAC Prefijos PCBs	TEF Aves
PCB 77	3,3',4,4'-Tetra	0,05
PCB 81	3,4,4',5-Tetra-	0,1
PCB 105	2,3,3',4,4'-Penta-	0,0001
PCB 114	2,3,4,4',5-Penta-	0,0001
PCB 118	2,3',4,4',5-Penta-	0,00001
PCB 123	2,3',4,4',5'-Penta-	0,00001
PCB 126	3,3',4,4',5-Penta-	0,1
PCB 156	2,3,3',4,4',5-Hexa-	0,0001
PCB 157	2,3,3',4,4',5'-Hexa-	0,0001
PCB 167	2,3',4,4',5,5'-Hexa-	0,00001
PCB 169	3,3',4,4',5,5'-Hexa-	0,001
PCB 189	2,3,3',4,4',5,5' -Hepta	0,00001



Según ⁴⁴¹Rice *et al* (2003), merced a los efectos que determinados metabolitos de PCBs pueden producir mediante mecanismos distintos a la unión al receptor Ah o por interacciones con algunos congéneres padres, hasta que se desarrollen otros procedimientos similares a los usados en los compuestos “tipo dioxina”, es recomendable medir el total de congéneres de PCBs en las muestras.

Se han descrito diferentes problemas reproductivos en aves de distintas especies expuestas experimentalmente a distintas mezclas de PCBs, manifestados por mortalidad prenatal, disminución en la tasa de eclosión o del grosor de cáscara (⁶⁰¹Hoffman *et al.*, 1996). Sin embargo, existe controversia en cuanto a los diferentes grados de afección sobre los parámetros reproductivos con distintas mezclas de PCBs. Así por ejemplo, ⁶⁰¹Hoffman *et al.* (1996) resumen estas alteraciones tras una revisión de distintos tratamientos experimentales con mezclas de PCBs en aves, así con Aroclor 1242 y 1254 la tasa de nacimiento en pollos se redujo cuando los residuos estaban por encima de 1 y 4 ppm, respectivamente. El Aroclor 1254 redujo el porcentaje de eclosión y la atención parental de palomas durante la incubación cuando la media total de residuos de PCBs en huevos de palomas era de 16 ppm, y en cerebro de adultos de 5,5 ppm. ⁴⁶⁷Eisler (1986) indica que la reproducción puede estar afectada cuando los niveles de PCBs en huevos exceden de 16 ppm. Sin embargo, ⁶⁰²McLane y Hughes (1980), no encontraron efectos en el grosor de cáscara, número de huevos, tasa de eclosión o productividad tras la administración, a Autillos yanquis en la dieta, de Aroclor 1248, la mezcla comercial con mayor contenido en el congéner 77 (⁶⁰³Anitescu *et al.*, 2000). Las concentraciones de PCBs en huevos oscilaron de 4 a 18 ppm (peso húmedo).

La “Lista Oficial de concentraciones máximas permitidas de sustancias tóxicas en alimentos” de Alemania (Verordnung über Höchstmengen an Schadstoffen in Lebensmitteln 1988), denomina “PCBs indicadores” o “target” a una lista de PCBs cuya existencia en un alimento nos hace presumir una amplia contaminación por este tipo de compuestos clorados. Esta lista está compuesta por los congéneres de PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180 (⁶⁰⁴Bachour *et al.*, 1988)

En la tabla III.9 se muestran las concentraciones encontradas en huevos de distintas especies de aves silvestres.



Tabla III.9. Concentraciones de PCBs en huevos (ng/g) de distintas aves silvestres

Especie	Σ PCB	Referencia
Garceta común (<i>Egretta garzetta</i>)	0,077	¹¹³ Fasola <i>et al.</i> , 1998
Martinete (<i>Nycticorax nycticorax</i>)	0,044	¹¹³ Fasola <i>et al.</i> , 1998
Cormoran grande (<i>Phalacrocorax Carbo</i>)	12,75 10,91 4,75 6,69	⁴⁰⁵ Konstantinou <i>et al.</i> , 2000
Azor (<i>Accipiter gentilis</i>)	232,0 (31,3-848)	⁵⁷⁴ Mañosa <i>et al.</i> , 2003
	16135 (n=16)	⁵²⁰ Wiesmüller <i>et al.</i> , 2002
Ratonero común (<i>Buteo buteo</i>)	290,1 (132,8-1838)	⁵⁷⁴ Mañosa <i>et al.</i> , 2003
Pigargo americano (<i>Haliaeetus leucocephalus</i>)	139,5	⁵⁶⁷ Clark <i>et al.</i> , 1998
Gaviota audouin (<i>Larus audouinii</i>)	461	⁵⁷⁶ Goutner <i>et al.</i> , 2001
	516	
	338	
Cernícalos vulgar (<i>Falco tinnunculus</i>)	40,65	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Milano negro (<i>Milvus migrans</i>)	35,23	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Aguilucho lagunero (<i>Circus aeruginosus</i>)	45,1	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Águila imperial (<i>Aquila heliaca</i>)	66,4	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Lechuza (<i>Tyto alba</i>)	33,94	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Búho chico (<i>Asio otus</i>)	38,08	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Cárabo (<i>Strix aluco</i>)	48	⁶⁰⁵ Kubistova <i>et al.</i> , 2003
Aguila pescadora (<i>Pandion haliaetus</i>)	780 (95,3-3675,1) (n=13)	⁶⁰⁶ Henny <i>et al.</i> , 2003
Gavilán (<i>Accipiter nisus</i>)	11049 (n=3)	⁵²⁰ Wiesmüller <i>et al.</i> , 2002
Alcotán (<i>Falco subbuteo</i>)	9517 (n=7)	⁵²⁰ Wiesmüller <i>et al.</i> , 2002



BIBLIOGRAFÍA





1. Henry JG, Heinke GW, Escalona y García HJ. Control de la contaminación del aire. In: *Ingeniería Ambiental*. Vol Prentice Hall; 1999:547-548. https://books.google.es/books?id=ToQmAKnPzIC&pg=PA547&lpg=PA547&dq=la+solución+a+la+contaminación+está+en+la+dilución&source=bl&ots=Gu3eK2Hfwo&sig=yY-hmcjsl1VxITMh0N3sh2eaXMo&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=la%2520soluci%25C3%25B3n%2520a%252. Accessed September 9, 2017.
2. Cohen G. The “solution” to pollution is still “dilution”. *Earth Isl Journal Earth Isl Institute*. 2002. http://www.earthisland.org/journal/index.php/eij/article/the_solution_to_pollution_is_still_dilution/. Accessed September 9, 2017.
3. Floehr T, Xiao H, Scholz-Starke B, et al. Solution by dilution?—A review on the pollution status of the Yangtze River. *Environ Sci Pollut Res*. 2013;20(10):6934-6971. doi:10.1007/s11356-013-1666-1.
4. Eriksen M, Lebreton LCM, Carson HS, et al. Plastic Pollution in the World’s Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. Dam HG, ed. *PLoS One*. 2014;9(12):e111913. doi:10.1371/journal.pone.0111913.
5. Fergusson JE. The heavy elements in water and sediments. In: *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*. Vol Oxford: Pergamon Press; 1990:243-327. <https://catalog.hathitrust.org/Record/002172263>.
6. PNUMA. *Evaluación Mundial Sobre El Mercurio. Programa de Las Naciones Unidas Para El Medio Ambiente*. Ginebra.; 2002. https://saludsindanio.org/sites/default/files/documents-files/1401/Evaluacion_Mundial_Mercurio.pdf. Accessed July 29, 2017.
7. Chester R, Nimmo M, Corcoran P a. Rain water-aerosol trace metal relationships at Cap Ferrat: A coastal site in the Western Mediterranean. *Mar Chem*. 1997;58(3-4):293-312. doi:10.1016/S0304-4203(97)00056-X.
8. Oceana. El Mediterráneo puede convertirse en otro “Golfo de México” Oceana EU. 2010. <http://eu.oceana.org/es/prensa-e-informes/comunicados-de-prensa/el-mediterraneo-puede-convertirse-en-otro-golfo-de-mexico>. Accessed June 28, 2017.
9. Lapiedra R. *Informe Sobre La Contaminación En El Mediterráneo*.; 2009. <http://www.cvc.gva.es/archivos/329.pdf>.
10. Ratcliffe D a. Changes Attributable to Pesticides in Egg Breakage Frequency and Eggshell Thickness in Some British Birds. *J Appl Ecol*. 1970;7(1):67-115. doi:10.2307/2401613.
11. Scheuhammer a M. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: a review. *Environ Pollut*. 1987;46(4):263-295. doi:10.1016/0269-7491(87)90173-4.
12. Newton I, Bogan J. Organochlorine residues, eggshell thinning and hatching success in British sparrowhawks. *Nature*. 1974;249(5457):582-583. doi:10.1038/249582a0.
13. Jiménez B, Rodríguez-Estrella R, Merino R, et al. Results and evaluation of the first study of organochlorine contaminants (PCDDs, PCDFs, PCBs and DDTs), heavy metals and metalloids in birds from Baja California, México. *Environ Pollut*. 2005;133(1):139-146. doi:10.1016/j.envpol.2004.05.014.
14. Bustnes JO, Bourgeon S, Leat EHK, et al. Multiple Stressors in a Top Predator Seabird: Potential Ecological Consequences of Environmental Contaminants, Population Health and Breeding Conditions. *PLoS One*. 2015;10(7):e0131769. doi:10.1371/journal.pone.0131769.



15. Bustnes JO, Yoccoz NG, Bangjord G, Polder A, Skaare JU. Temporal trends (1986-2004) of organochlorines and brominated flame retardants in tawny owl eggs from northern Europe. *Environ Sci Technol.* 2007;41(24):8491-8497. doi:10.1021/es071581w.
16. García-Fernández AJ, Calvo JF, Martínez-López E, María-Mojica P, Martínez JE. Raptor ecotoxicology in Spain: a review on persistent environmental contaminants. *Ambio.* 2008;37(6):432-439. doi:10.1579/0044-7447(2008)37[432:reisar]2.0.co;2.
17. Wikelski M, Cooke SJ. Conservation physiology. *Trends Ecol Evol.* 2006;21(1):38-46. doi:10.1016/j.tree.2005.10.018.
18. Cooke SJ, Hinch SG, Donaldson MR, et al. Conservation physiology in practice: how physiological knowledge has improved our ability to sustainably manage Pacific salmon during up-river migration. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2012;367(1596):1757-1769. doi:10.1098/rstb.2012.0022.
19. Garcia-Fernández AJ, María-Mojica P. Contaminantes ambientales y su repercusión sobre la fauna silvestre. Programas de biomonitorización. In: *Globalización Medioambiental. Perspectivas Agrosanitarias Y Urbana*". Vol Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación; 2000:215-224.
20. Beeby A. What do sentinels stand for? *Environ Pollut.* 2001;112(2):285-298. doi:10.1016/S0269-7491(00)00038-5.
21. Hotchkiss N, Pough RH. Effects on forest birds of DDT used for gypsy moth control in Pennsylvania. *J Wildl Manage.* 1946;10(3):202-207. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5221495>. Accessed July 9, 2017.
22. Newton I, Wyllie I. Recovery of a sparrowhawk population in relation to declining pesticide contamination. *J Appl Ecol.* 1992;29(2):476-484. doi:10.2307/2404515.
23. Newman EI. *Applied Ecology and Environmental Management*. Vol 2nd ed. Massachusetts, USA: Blackwell Science Ltd.; 2000.
24. García-Fernández AJ. Avian Ecotoxicology. In: *Encyclopedia of Toxicology*. Vol ; 2014:289-294. doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00496-6.
25. National Research Council. *Animals as Sentinels of Environmental Health Hazards*. Washington, D.C.: National Academies Press; 1991. doi:10.17226/1351.
26. Furness RW. Birds as monitors of pollutants. In: *Birds as Monitors of Environmental Change*. Vol Dordrecht: Springer Netherlands; 1993:86-143. doi:10.1007/978-94-015-1322-7_3.
27. Burger J. Metals in avian feathers: bioindicators of environmental pollution. *Rev Env toxicol.* 1993;5:203-311.
28. Espín S, Martínez-López E, Gómez-Ramírez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Razorbills (Alca torda) as bioindicators of mercury pollution in the southwestern Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 2012;64(11):2461-2470. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.07.045.
29. Espín S, García-Fernández AJ, Herzke D, et al. Tracking pan-continental trends in environmental contamination using sentinel raptors—what types of samples should we use? *Ecotoxicology.* 2016;25(4):777-801. doi:10.1007/s10646-016-1636-8.



30. Duke G. The EU environmental policy context for monitoring for and with raptors in Europe. *Ambio*. 2008;37(6):397-400. doi:10.1579/0044-7447(2008)37[397:TEPCF]2.0.CO;2.
31. Agencia Europea para la Seguridad y la Salud en el Trabajo. Regulation (EC) No 1907/2006 - REACH - Salud y seguridad en el trabajo - EU-OSHA. *Regul No 1907/2006 - Reach*. 2006. <https://osha.europa.eu/es/legislation/directives/regulation-ec-no-1907-2006-of-the-european-parliament-and-of-the-council>. Accessed July 30, 2017.
32. Rose GA, Parker GH. Effects of smelter emissions on metal levels in the plumage of ruffed grouse near Sudbury, Ontario, Canada. *Can J Zool*. 1982;60(11):2659-2667. doi:10.1139/z82-342.
33. Burger J. Heavy metal and selenium levels in feathers of Franklin's gulls in interior North America. *Auk*. 1996;113(2):399-407. <https://sora.unm.edu/sites/default/files/journals/auk/v113n02/p0399-p0407.pdf>. Accessed June 12, 2017.
34. Dauwe T, Bervoets L, Blust R, Pinxten R, Eens M. Can Excrement and Feathers of Nestling Songbirds Be Used as Biomonitors for Heavy Metal Pollution? *Arch Environ Contam Toxicol*. 2000;39(4):541-546. doi:10.1007/s002440010138.
35. Becker PH. Biomonitoring with birds. In: Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG, eds. *Trace Metals and Other Contaminants in the Environment*. Vol 6. Elsevier Science Ltd.; 2003:677-736. doi:10.1016/S0927-5215(03)80149-2.
36. Marugán MR, Pelechà VY. Biomonitorización Humana de contaminantes ambientales . 2013;3:59-70.
37. Burgeot T, Bocquéné G, Porte C, et al. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea. *Mar Ecol Prog Ser*. 1996;131(1-3):125-141. doi:10.3354/meps131125.
38. Jaspers V, Dauwe T, Pinxten R, Bervoets L, Blust R, Eens M. The importance of exogenous contamination on heavy metal levels in bird feathers. A field experiment with free-living great tits, *Parus major*. *J Environ Monit*. 2004;6:356-360. doi:10.1039/b314919f.
39. Pérez López M, Cid Galán F, Hernández Moreno D, et al. Contenido de metales pesados en hígado y plumas de aves marinas afectadas por el accidente del " Prestige " en la costa de Galicia. *Rev Toxicol*. 2005;22:191-199.
40. Rattner B a. History of wildlife toxicology. *Ecotoxicology*. 2009;18(7):773-783. doi:10.1007/s10646-009-0354-x.
41. Azcoytia C. Historia y fabricación del Garum. 2007. <http://www.historiacocina.com/historia/articulos/garum.htm>. Accessed July 30, 2017.
42. Lleonart J. Los recursos pesqueros del Mediterráneo. *Quad la Mediterrània*. 2011;16:246-251. http://www.iemed.org/observatori/arees-danalisi/arxiu-adjunts/qm-16-es/lleonart_recursos_pesqueros_Med_qm16.pdf.
43. Johansson A-K, Sellström U, Lindberg P, Bignert A, De Witt C a. Polybrominated diphenyl ether congener patterns, hexabromocyclododecane, and brominated biphenyl 153 in eggs of peregrine falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden. *Environ Toxicol Chem*. 2009;28(1):9-17. doi:10.1897/08-142.1.



44. Ruiz X, Oro D, Martínez-Vilalta A, Jover L. Feeding ecology of Audouin's Gulls (*Larus audouinii*) in the Ebro Delta. *Colon Waterbirds*. 1996;19(1996):68-74.
45. GFCM-FAO. GFCM capture production 1970-2008 Database and FishSTAT Plus – Universal software for fishery statistical time series. 2010.
46. 03/Nat/E/000061 PL. *Acción C4: Valoración de Los Descartes Pesqueros Y Su Incidencia (Directa O Indirecta), Sobre La Avifauna*. http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=GaviotaMurciana_ValorizacionRecursosPesqueros.pdf. Accessed July 5, 2017.
47. C&C-MEDIO AMBIENTE. *Efectos de La Veda de Arrastre En Las Poblaciones de Sus Principales Especies Objetivo Y Caracterización de La Pesca Deportiva En La Región de Murcia*. REGIÓN DE MURCIA; 2006. [https://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=21390&IDTIPO=100&RASTRO=c220\\$m9190](https://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=21390&IDTIPO=100&RASTRO=c220$m9190).
48. Álamo Carrasco E. Efectos de las jaulas de engorde de dorada y lubina sobre las aves marinas : presencia de especies migratorias , nidificantes e invernantes de la provincia de Alicante , su aprovechamiento alimentario y la influencia sobre sus poblaciones. 2009. <https://www.yumpu.com/es/document/view/48748708/efectos-de-las-jaulas-de-engorde-de-dorada-y-lubina-sobre-las-aves->.
49. Trivers RL, Willard DE. Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* (80-). 1973;179:90-92.
50. Genovart M, Oro D, Ruiz X, Griffiths R, Monaghan P, Nager R. Seasonal changes in brood sex composition in Audouin's Gulls. *The Condor*. 2003;105:783-790. doi:10.1650/7265.
51. Clutton-Brock TH, Vincent ACJ. Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females. *Nature*. 1991;351(6321):58-60. doi:10.1038/351058a0.
52. Fiala KL, Congdon JD, Fiala KL, Congdon JD. Energetic consequences of sexual size dimorphism in nestling red-winged blackbirds. *Ecology*. 1983;64(4):642-647.
53. Wiebe K, Bortolotti G. Facultative sex ratio manipulation in American kestrels. *Behav Ecol Sociobiol*. 1992;30(6):379-386. doi:10.1007/BF00176172.
54. Paterson C, Emlen J. Variation in nestling sex ratios in the Yellow-headed Blackbird. *Am Nat*. 1980;115:743-747. doi:10.2307/2678832.
55. Clutton-Brock TH, Albon SD, Guinness FE. Parental investment and sex differences in juvenile mortality in birds and mammals. *Nature*. 1985;313(5998):131-133. doi:10.1038/313131a0.
56. Oró D. Audouin's gull account. In: Ogilvie MA, ed. *The Birds of Western Palearctic*. Vol Oxford: Oxford University Press; 1998:47-61.
57. Anderson DJ, Reeve J, Gomez JEM, et al. Sexual size dimorphism and food requirements of nestling birds. *Can J Zool*. 1993;71(12):2541-2545. doi:10.1139/z93-347.
58. Alonso-Alvarez C, Velando A. Female body condition and brood sex ratio in Yellow-legged Gulls *Larus cachinnans*. *Ibis (Lond 1859)*. 2003;145(2):220-226. doi:10.1046/j.1474-919X.2003.00149.x.



59. Schwartz ML. *Encyclopedia of Coastal Science*. Western Washington University, WA, USA: Springer; 2005.
60. Rombolà P, Battisti S, Scaramozzino P. Biomonitoraggio animale e microinquinanti in sanità pubblica – Rassegna bibliografica. *Epidemiol Prev.* 2012;36(4):1-52. http://www.epiprev.it/materiali/2012/EP2012_I5S4_005.pdf. Accessed July 30, 2017.
61. Ibarluzea J, Aurrekoetxea JJ, Porta M, Sunyer J, Ballester F. La biomonitorización de sustancias tóxicas en muestras biológicas de población general. *Gac Sanit.* 2016;30:45-54. doi:10.1016/j.gaceta.2016.02.012.
62. Furness RW, Greenwood JJD, Jarvis PJ. Can birds be used to monitor the environment? In: *Birds as Monitors of Environmental Change*. Vol Dordrecht: Springer Netherlands; 1993:1-41. doi:10.1007/978-94-015-1322-7_1.
63. Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG. *Definitions , Strategies and Principles for Bioindication/biomonitoring of the Environment*. Vol (Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG, eds.). Elsevier Science Ltd.; 2003.
64. Maceda-Veiga A, Figuerola J, Martínez-Silvestre A, Viscor G, Ferrari N, Pacheco M. Inside the Redbox: Applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. *Sci Total Environ.* 2015. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.02.004.
65. Moore NW. A pesticide monitoring system with special reference to the selection of indicator species. *J Appl Ecol.* 1966;3:261-269. <http://www.jstor.org/stable/pdf/2401465.pdf?refreqid=excelsior%3A11f3a27fe29183ef0b9593ab6b9abfb6>.
66. Forbes VE., Forbes TL. *Ecotoxicology in Theory and Practice*. London. UK: Chapman & Hall; 1994.
67. Beyer WN, Heinz GH. Foreword. In: Redmon-Norwood A.W. (Eds), ed. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Lewis, Boca Raton, Florida; 1996.
68. Thompson DW. The Works of Aristotle. Clarendon Press, ed. *Hist Anim.* 1910;IV:614-620.
69. Gómez-Ramírez P, Shore RF, Van den Brink NW, et al. An overview of existing raptor contaminant monitoring activities in Europe. *Environ Int.* 2014;67:12-21. doi:10.1016/j.envint.2014.02.004.
70. Stewart FM, Phillips RA, Catry P, Furness RW. Influence of species, age and diet on mercury concentrations in Shetland seabirds. *Mar Ecol Prog Ser.* 1997;151(1-3):237-244. doi:10.3354/meps151237.
71. Gilbertson D, Elliott M, Peakall J. Seabirds as indicators of marine pollution. In: A. W. Diamond and F. L. Filion, ed. *The Value of Birds*. Vol Technical. Cambridge; 1987.
72. Scharenberg W. Prefledgling terns (*Sterna adisaea*, *Sterna hirundo*) as bioindicators for organochlorine residues in the German Wadden Sea. *Arch Env Contam Toxicol.* 1991;21:102-105.
73. Van Wyk E, Van der Bank F, Verdoorn G, Hofmann D. Selected mineral and heavy metal concentrations in blood and tissues of vultures in different regions of South Africa. *S Afr J Anim Sci.* 2001;31(2):57-63. <http://www.ajol.info/index.php/sajas/article/view/3831/0>.



74. Baos R, Jovani R, Forero MG, et al. Relationships between T-cell-mediated immune response and Pb, Zn, Cu, Cd, and as concentrations in blood of nestling white storks (*Ciconia ciconia*) and black kites (*Milvus migrans*) from Doñana (southwestern Spain) after the Aznalcóllar toxic spill. *Environ Toxicol Chem.* 2006;25(4):1153-1159. doi:10.1897/05-395r.1.
75. Gómez-Ramírez P, Martínez-López E, María-Mojica P, León-Ortega M, García-Fernández a. J. Blood lead levels and δ -ALAD inhibition in nestlings of Eurasian Eagle Owl (*Bubo bubo*) to assess lead exposure associated to an abandoned mining area. *Ecotoxicology.* 2011;20(1):131-138. doi:10.1007/s10646-010-0563-3.
76. Espín S, Martínez-López E, León-Ortega M, Calvo JF, García-Fernández AJ. Factors that influence mercury concentrations in nestling Eagle Owls (*Bubo bubo*). *Sci Total Environ.* 2014;470-471:1132-1139. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.063.
77. de la Casa-Resino I, Hernández-Moreno D, Castellano A, Pérez-López M, Soler F. Chlorinated pollutants in blood of White stork nestlings (*Ciconia ciconia*) in different colonies in Spain. *Chemosphere.* 2015;118:367-372. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.10.062.
78. Frank RA, Lutz RS. Productivity and survival of Great Horned Owls exposed to Dieldrin. *Condor.* 1999;101:331-339. <https://sora.unm.edu/sites/default/files/journals/condor/v101n02/p0331-p0339.pdf>.
79. Burger J, Gochfeld M. Age differences in metals in the blood of herring (*Larus argentatus*) and Franklin's (*Larus pipixcan*) gulls. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1997;33(4):436-440. doi:10.1007/s002449900274.
80. Sanpera C, Moreno R, Ruiz X, Jover L. Audouin's gull chicks as bioindicators of mercury pollution at different breeding locations in the western Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 2007;54(6):691-696. doi:10.1016/j.marpolbul.2007.01.016.
81. García-Fernández, A.J.; Navas, I.; Martínez-López, E.; María-Mojica P. Monitoring of persistent environmental contaminants in forest raptors in Spain: exposure and effects. In: Iñigo Zuberogoitia & José Enrique Martínez, ed. *Ecology and Conservation of European Forest-Dwelling Raptors*. Vol Bizkaia: Departamento de Agricultura de la Diputación Foral de Bizkaia; 2011:337-350. http://www.europeanraptors.org/documents/ECEFDR_index.pdf.
82. Monteiro LR, Furness RW. Kinetics, dose-response, and excretion of methylmercury in free-living adult Cory's shearwaters. *Environ Sci Technol.* 2001;35(4):739-746. doi:10.1021/es000114a.
83. Fournier F, Karasov WH, Kenow KP, Meyer MW, Hines RK. The oral bioavailability and toxicokinetics of methylmercury in common loon (*Gavia immer*) chicks. *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol.* 2002;133(3):703-714. doi:10.1016/S1095-6433(02)00140-X.
84. Kenow KP, Meyer MW, Hines RK, Karasov WH. Distribution and accumulation of mercury in tissues of captive-reared common loon (*Gavia immer*) chicks. *Environ Toxicol Chem.* 2007;26:1047-1055. doi:10.1897/06-193R.1.
85. Vanparys C, Dauwe T, Van Campenhout K, et al. Metallothioneins (MTs) and δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAd) as biomarkers of metal pollution in great tits (*Parus major*) along a pollution gradient. *Sci Total Environ.* 2008;401(1-3):184-193. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.04.009.



86. Goldstein B, Gibson J, Henderson R, et al. Biological Markers in Environmental. *Environ Health Perspect.* 1987;74:3-9. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1474499/pdf/envhper00433-0008.pdf>. Accessed July 10, 2017.
87. Moriarty F. *Ecotoxicology : The Study of Pollutants in Ecosystems*. London: Academic Press; 1999.
88. García-Fernández A. Impregnación por plomo y cadmio en aves silvestres de la Región de Murcia. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. 1994.
89. Peakall D. *Animal Biomarkers as Pollution Indicators*. Vol Chapman &. Dordrecht: Springer Netherlands; 1992. doi:10.1007/978-94-011-2346-4.
90. Donaldson GM, Shutt JL, Hunter P. Organochlorine contamination in bald eagle eggs and nestlings from the Canadian Great Lakes. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1999;36(1):70-80. doi:10.1007/s002449900444.
91. Norstrom RJ. Understanding bioaccumulation of POPs in food webs. Chemical, biological, ecological and environmental considerations. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2002;9(5):300-303. doi:10.1007/BF02987570.
92. Martínez-López E, María-Mojica P, Martínez JE, et al. Organochlorine residues in booted eagle (*Hieraaetus pennatus*) and goshawk (*Accipiter gentilis*) eggs from southeastern Spain. *Environ Toxicol Chem.* 2007;26(11):2373-2378. doi:10.1897/07-057R.1.
93. Van den Steen E, Jaspers VLB, Covaci A, Neels H, Eens M, Pinxten R. Maternal transfer of organochlorines and brominated flame retardants in blue tits (*Cyanistes caeruleus*). *Environ Int.* 2009;35(1):69-75. doi:10.1016/j.envint.2008.08.003.
94. Morrissey C a., Elliott JE, Ormerod SJ. Diet shifts during egg laying: Implications for measuring contaminants in bird eggs. *Environ Pollut.* 2010;158(2):447-454. doi:10.1016/j.envpol.2009.08.040.
95. Hashmi MZ, Malik RN, Shahbaz M. Heavy metals in eggshells of cattle egret (*Bubulcus ibis*) and little egret (*Egretta garzetta*) from the Punjab province, Pakistan. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013;89:158-165. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.11.029.
96. Becker PH. Seabirds as monitor organisms of contaminants along the German North Sea coast. *Helgoländer Meeresunter.* 1989;43:395-403.
97. Becker PH, Thyen S, Mickstein S, Sommer U. Monitoring pollutants in coastal bird eggs in the Wadden Sea: final report of the pilot study 1996-1997. *Wadden Sea Ecosyst.* 1998;8:101. https://books.google.es/books/about/Monitoring_pollutants_in_coastal_bird_eg.html?id=ORWKtgAACAAJ&redir_esc=y. Accessed July 10, 2017.
98. Sanpera C, Morera M, Ruiz X, Jover L. Variability of mercury and selenium levels in clutches of Audouin's gulls (*Larus audouinii*) breeding at the Chafarinas Islands, Southwest Mediterranean. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2000;39(1):119-123. doi:10.1007/s002440010087.
99. García-Fernández A, Sánchez-García JA, Jiménez-Montalbán P, Luna A. Lead and cadmium in wild birds in southeastern Spain. *Environ Toxicol Chem.* 1995;14(12):2049-2058. doi:10.1002/etc.5620141207.



100. García-Fernández AJ, Sanchez-García JA, Gomez-Zapata M, Luna A. Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1996;30(2):252-258. doi:10.1007/BF00215805.
101. García-Fernández AJ, Motas-Guzmán M, Navas I, María-Mojica P, Luna A, Sánchez-García JA. Environmental exposure and distribution of lead in four species of raptors in southeastern Spain. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1997;33(1):76-82. doi:10.1007/s002449900226.
102. Rivera-Rodríguez LB, Rodríguez-Estrella R, Ellington JJ, Evans JJ. Quantification of low levels of organochlorine pesticides using small volumes ($\leq 100 \mu\text{l}$) of plasma of wild birds through gas chromatography negative chemical ionization mass spectrometry. *Environ Pollut*. 2007;148(2):654-662. doi:10.1016/j.envpol.2006.11.018.
103. Jakszyn P, Goñi F, Etxeandia A, et al. Serum levels of organochlorine pesticides in healthy adults from five regions of Spain. *Chemosphere*. 2009;76(11):1518-1524. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.05.048.
104. Martínez-López E, Romero D, María-Mojica P, Martínez JE, Calvo JF, García-Fernández AJ. Changes in blood pesticide levels in booted eagle (*Hieraaetus pennatus*) associated with agricultural land practices. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2009;72(1):45-50. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.02.012.
105. Custer TW, Custer CM. Transfer and accumulation of organochlorines from black-crowned night-heron eggs to chicks. *Environ Toxicol Chem*. 1995;14(3):533-536. doi:10.1897/1552-8618(1995)14[533:taaoo]2.0.co;2.
106. Braune BM, Gaskin DE. A mercury budget for the Bonaparte's Gull during autumn moult. *Ornis Scand*. 1987;18(4):244-250.
107. Burger J, Gochfeld M. Behavior effects of lead exposure on different days for gull (*Larus argentatus*) chicks. *Pharmacol Biochem Behav*. 1995;50(1):97-105. doi:10.1016/0091-3057(94)00290-Y.
108. Hobson KA. Using stable isotopes to trace long-distance dispersal in birds and other taxa. *Divers Distrib*. 2005;11(2):157-164. doi:10.1111/j.1366-9516.2005.00149.x.
109. Poulakakis N, Antoniou A, Mantziou G, et al. Population structure, diversity, and phylogeography in the near-threatened Eurasian black vultures *Aegypius monachus* (Falconiformes; Accipitridae) in Europe: insights from microsatellite and mitochondrial DNA variation. *Biol J Linn Soc*. 2008;95(4):859-872. doi:10.1111/j.1095-8312.2008.01099.x.
110. Jaspers VLB, Rodriguez FS, Boertmann D, et al. Body feathers as a potential new biomonitoring tool in raptors: A study on organohalogenated contaminants in different feather types and preen oil of West Greenland white-tailed eagles (*Haliaeetus albicilla*). *Environ Int*. 2011;37(8):1349-1356. doi:10.1016/j.envint.2011.06.004.
111. García-Fernández AJ, Espín S, Martínez-López. E. Feathers as a biomonitoring tool of polyhalogenated compounds: A review. *Environ Sci Technol*. 2013;47(7):3028-3043. doi:10.1021/es302758x.
112. Burgess NM, Evers DC, Kaplan JD. Mercury and other Contaminants in Common Loons Breeding in Atlantic Canada. *JD Ecotoxicol*. 2005;14:241. doi:10.1007/s10646-004-6271-0.
113. Fasola M, Movalli P a., Gandini C. Heavy metal, organochlorine pesticide, and PCB residues in eggs and feathers of herons breeding in northern Italy. *Arch Environ Contam Toxicol*.



- 1998;34(1):87-93. doi:10.1007/s002449900289.
114. Garitano-Zavala Á, Cotín J, Borràs M, et al. Trace metal concentrations in tissues of two tinamou species in mining areas of Bolivia and their potential as environmental sentinels. *Env Monit Assess*. 2010;168:629-644. doi:10.1007/s10661-009-1139-7.
 115. Hollamby S, Afema-Azikuru J, Sikarskie JG, et al. Mercury and persistent organic pollutant concentrations in African fish eagles, marabou storks, and Nile tilapia in Uganda. *J Wildl Dis*. 2004;40(3):501-514. doi:10.7589/0090-3558-40.3.501.
 116. Malik RN, Zeb N. Assessment of environmental contamination using feathers of *Bubulcus ibis* L., as a biomonitor of heavy metal pollution, Pakistan. *Ecotoxicology*. 2009;18(5):522-536. doi:10.1007/s10646-009-0310-9.
 117. Martínez-López E, María-Mojica P, Martínez JE, Calvo JF, Romero D, García-Fernández a. J. Cadmium in feathers of adults and blood of nestlings of three raptor species from a nonpolluted Mediterranean forest, southeastern Spain. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2005;74(3):477-484. doi:10.1007/s00128-005-0610-6.
 118. Zolfaghari G, Esmaili-Sari A, Ghasempouri SM, Kiabi BH. Examination of mercury concentration in the feathers of 18 species of birds in southwest Iran. *Environ Res*. 2007;104(2):258-265. doi:10.1016/j.envres.2006.12.002.
 119. Espín S, Martínez-López E, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Razorbill (*Alca torda*) feathers as an alternative tool for evaluating exposure to organochlorine pesticides. *Ecotoxicology*. 2012;21(1):183-190. doi:10.1007/s10646-011-0777-z.
 120. Espín Luján S. Biomonitoring of persistent environmental pollutants using feathers and assessment of sublethal effects using oxidative stress biomarkers in wildbirds. *Tesis Dr Univ Murcia*. 2013:1-334.
 121. Furness RW, Muirhead SJ, Woodburn M. Using bird feathers to measure mercury in the environment: Relationships between mercury content and moult. *Mar Pollut Bull*. 1986;17(1):27-30. doi:10.1016/0025-326X(86)90801-5.
 122. Dauwe T, Jaspers V, Covaci A, Schepens P, Eens M. Feathers as a nondestructive biomonitor for persistent organic pollutants. *Environ Toxicol Chem*. 2005;24(2):442-449. doi:10.1897/03-596.1.
 123. Jaspers VLB, Voorspoels S, Covaci a., Lepoint G, Eens M. Evaluation of the usefulness of bird feathers as a non-destructive biomonitoring tool for organic pollutants: A comparative and meta-analytical approach. *Environ Int*. 2007;33(3):328-337. doi:10.1016/j.envint.2006.11.011.
 124. Behrooz RD, Esmaili-Sari A, Ghasempouri SM, Bahramifar N, Covaci A. Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in feathers of birds from different trophic levels of South-West Iran. *Environ Int*. 2009;35(2):285-290. doi:10.1016/j.envint.2008.07.001.
 125. Rajaei F, Sari AE, Bahramifar N, Savabieasfahani M, Ghasempouri M. Persistent Organic Pollutants in Muscle and Feather of Ten Avian Species from Māzandarān Province of Iran, on the Coast of the Caspian Sea. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2011;87(6):678-683. doi:10.1007/s00128-011-0420-y.
 126. Korte SM, Beuving G, Ruesink W, Blokhuis HJ. Plasma catecholamine and corticosterone levels during manual restraint in chicks from a high and low feather pecking line of laying



- hens. *Physiol Behav.* 1997;62(3):437-441. doi:10.1016/S0031-9384(97)00149-2.
127. Herborn KA, Graves JL, Jerem P, et al. Skin temperature reveals the intensity of acute stress. *Physiol Behav.* 2015;152:225-230. doi:10.1016/j.physbeh.2015.09.032.
128. Barragán JI. Estrés térmico en ponedoras. 1989. https://ddd.uab.cat/pub/selavi/selavi_a1989m6v31n6/selavi_a1989m6v31n6p180.pdf.
129. Kentucky Poultry Energy Efficiency Project. Poultry Production manual - Chapter 7. *Poult Prod Man.* 2014. http://www2.ca.uky.edu/poultryprofitability/Production_manual/Chapter7_Ventilation_principles/Chapter7_air_temperature.html.
130. Brossi C, Contreras-Castillo CJ, de Almeida Amazonas E, Menten JFM. Estresse térmico durante o pré-abate em frangos de corte. *Cienc Rural.* 2009;39(4):1248-1293. <http://web.b.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=01038478&AN=43307883&h=Avobz62qt61bVKLHZZ61%2ByrhHIQQUBHCiB0iEQoc%2Bcxhfx9714PKigstI8vbJVfS51D5XEW8SC4sSeJweTaz1w%3D%3D&crl=f&resultNs=AdminWebAuth&resultLocal=>. Accessed July 16, 2017.
131. De Basilio V, Cori M. Efectos del estrés térmico sobre la calidad de la carne en los pollos de engorde. *Rev Albeitar Portal Vet.* 2016. <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/14839/articulos-aves/efectos-del-estres-termico-sobre-la-calidad-de-la-carne-en-los-pollos-de-engorde.html>.
132. Henny CJ, Elliott J. Toxicology. In: Bildstein KL, Bird DM, eds. *Raptor Research and Management Techniques*. Vol Blaine, Washington, USA: Hancock House Publisher Ltd.; 2007:329-350.
133. Evers DC, Burgess NM, Champoux L, et al. Patterns and interpretation of mercury exposure in freshwater avian communities in northeastern North America. *Ecotoxicology.* 2005;14(1-2):193-221. doi:10.1007/s10646-004-6269-7.
134. Rizzo A, Arcagni M, Arribére MA, Bubach D, Guevara SR. Mercury in the biotic compartments of Northwest Patagonia lakes, Argentina. *Chemosphere.* 2011;84:70-79. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.02.052.
135. Nava-Diaz R, Hoogesteijn AL, Erosa MD, Febles JL, Mendez-Gonzalez RM. Comparative Study of Lead Concentration in Feathers of Urban and Rural Passerines in Merida, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2015;95(4):470-474. doi:10.1007/s00128-015-1628-z.
136. Burger J, Gochfeld M. Lead and behavioral development: Parental compensation for behaviorally impaired chicks. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;55(3):339-349. doi:10.1016/S0091-3057(96)00103-7.
137. Burger J, Gochfeld M. Risk, mercury levels, and birds: relating adverse laboratory effects to field biomonitoring. *Environ Res.* 1997;75(2):160-172. doi:DOI: 10.1006/enrs.1997.3778.
138. Henny CJ, Hill EF, Hoffman DJ, Spalding MG, Grove RA. Nineteenth Century Mercury: Hazard to Wading Birds and Cormorants of the Carson River, Nevada. *Ecotoxicology.* 2002;11:213-231. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1023%2FA%3A1016327602656.pdf>. Accessed August 10, 2017.
139. Champoux L, Masse DC, Evers D, Lane OP, Plante M, Timmermans ST a. Assessment of mercury exposure and potential effects on common loons (*Gavia immer*) in Québec.



- Hydrobiologia*. 2006;567(1):263-274. doi:10.1007/s10750-006-0066-7.
140. Martínez-López E, Martínez JE, María-Mojica P, et al. Lead in feathers and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in three raptor species from an unpolluted Mediterranean forest (Southeastern Spain). *Arch Environ Contam Toxicol*. 2004;47(2):270-275. doi:10.1007/s00244-004-3027-z.
 141. Duffus JH. *Toxicología Ambiental*. Vol (Ediciones Omega, ed.). Barcelona; 1983.
 142. Fyfe WS. Towards 2050: the past is not the key to the future-challenges for the science of geochemistry. *Environ Geol*. 1998;33:92-95.
 143. Garrett RG. Natural Sources of Metals to the Environment. *Hum Ecol Risk Assess An Int J*. 2000;6(6):945-963. doi:10.1080/10807030091124383.
 144. Diaz Mayans J, Torreblanca A, Del Ramo J. Presencia de metales en el medio acuático. In: Mas A y Azcue JM (Eds), ed. *Metales En Sistemas Biológicos*. Vol Barcelona: Promociones y Publicaciones Universitarias; 1993:187-206.
 145. US EPA. United States Environmental Protection Agency. Priority Pollutant List. 2014. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/priority-pollutant-list-epa.pdf>. Accessed September 9, 2017.
 146. Eisler R. Zinc hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. In: *Contaminant Hazard Reviews Report 26; Biological Report 10*. Vol Laurel, MD: U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service; 1993. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5200116>. Accessed July 10, 2017.
 147. Eisler R. Copper hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. *Biol Sci Rep USGS / BRD / BSR--1997-0002 Contam Hazard Rev*. 1998;(33).
 148. Cousins, R; Hempe J. Zinc. In: Brown ML, ed. *Present Knowledge in Nutrition*. Vol 6th ed. Washington: Nutrition Foundation; 1990:251-260.
 149. O'Dell BL. Copper. In: Brown ML, ed. *Present Knowledge in Nutrition*. Vol 6th ed. Washington DC: Nutrition Foundation; 1990:261-267.
 150. Pombo M, Castro L, Barreiro J. El crecimiento, el desarrollo y los elementos traza. *An Españoles Pediatría*. 2001;54(1). <http://seep.es/privado/documentos/congresos/C2001/9.pdf>.
 151. Cousins RJ, Blanchard RK, Moore JB, et al. Regulation of zinc metabolism and genomic outcomes. *J Nutr*. 2003;133:1521-1526. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12730457>.
 152. Noël-Lambot F. Distribution of cadmium, zinc and copper in the mussel (*Mytilus edulis*). Existence of cadmium-binding proteins similar to metallothioneins. *Experientia*. 1976;32(3):324-326. doi:10.1007/BF01940817.
 153. Feliu MS, Piñeiro A, López C, Slobodianik NH. Valores de referencia de cobre, zinc y selenio en niños. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2005;39(4):459-462. <http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v39n4/v39n4a07.pdf>.
 154. Cartwright GE, Wintrobe MM. Copper metabolism in normal subjects. *Am J Clin Nutr*. 1964;14(4):224-232. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14142382>. Accessed August 12, 2017.



155. Cousins RJ. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev.* 1985;65(2). <http://physrev.physiology.org/content/65/2/238.short>. Accessed August 12, 2017.
156. King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *J Nutr.* 2000;130(5S Suppl):1360S-6S. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10801944>. Accessed August 12, 2017.
157. Pinto Ganfornina JJ. Nuevas alternativas para la simplificación y mejora de la metodología de análisis de metales pesados en muestras ambientales. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias de Cadiz. 2008. <http://minerva.uca.es/publicaciones/asp/docs/tesis/JJPintoGanfornina.pdf>. Accessed July 10, 2017.
158. Castillo C, Fisberg M, Uauy R. El cobre como mineral esencial para la nutrición humana. *Rev chil pediatr.* 1982;53(3):262-268. <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=7210&indexSearch=ID>.
159. Menéndez AM^a, Weisstaub AR., Montemerlo H., et al. Contenido de zinc y cobre en los componentes individuales de las mezclas para fórmulas pediátricas de nutrición parenteral total. *Nutr Hosp.* 2007;22(5):545-551. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0212-16112007000700004.
160. Pang C, Selck H, Banta GT, et al. Bioaccumulation, toxicokinetics, and effects of copper from sediment spiked with aqueous Cu, nano-CuO, or micro-CuO in the deposit-feeding snail, *Potamopyrgus antipodarum*. *Environ Toxicol Chem.* 2013;32(7):1561-1573. doi:10.1002/etc.2216.
161. Goyer RA. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD, Amdur M.O., Doull J., eds. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 5th Edition*. Vol New York: McGraw-Hill Education; 1996:691-736.
162. Goyer R a. Toxic and essential metal interactions. *Annu Rev Nutr.* 1997;17:37-50. doi:10.1146/annurev.nutr.17.1.37.
163. Goyer RA., Clarkson TW. Toxic effects of metals. In: Klaassen CD, ed. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. Vol Sixth Edit. New York: McGraw-Hill; 2001:811-867.
164. Sternlieb I. Copper and zinc. In: Arias I.M., Jakoby W.B., Popper H., Schachter D. SDA, ed. *The Liver: Biology and Pathobiology, Second Edition*. Vol New York: Raven Press; 1988:525-533. doi:10.1016/0168-8278(89)90173-6.
165. Cao J, Henry PR, Davis SR, et al. Relative bioavailability of organic zinc sources based on tissue zinc and metallothionein in chicks fed conventional dietary zinc concentrations. *Anim Feed Sci Technol.* 2002;101(101):161-170. http://ac.els-cdn.com/S0377840102000512/1-s2.0-S0377840102000512-main.pdf?_tid=2ad5ae-65ae-11e7-ade3-00000aab0f6b&acdnat=1499718617_e561e19b43fb1e6e4a13bb77d5957f4a. Accessed July 10, 2017.
166. Gad S. Zinc. In: Philip Wexler. National Library of Medicine., ed. *Encyclopedia of Toxicology*. Vol 3. 2nd ed. Bethesda. MD. USA; 2005:423-424. doi:<https://doi.org/10.1016/B0-12-369400-0/09001-3>.



167. ASTDR. Toxicological profile for Copper. *US Public Heal Serv Agency Toxic Subst Dis Regist.* 2004;(September):121-189. doi:doi:10.1201/9781420061888_ch106.
168. Sarkar B, Laussac JP, Lau S. Transport forms of copper in human serum. In: Raven Press Books Ltd, ed. *Biological Aspects of Metals and Metal-Related Diseases*. Vol New York; 1983. doi:10.1177/014860718300700618.
169. Evans GW, LeBlanc FN. Copper-binding protein in rat intestine: amino acid composition and function. *Nutr reports Int* . 1976;14(3):281-288.
170. Marceau N, Aspin N, Sass-Kortsak A. Absorption of copper 64 from gastrointestinal tract of the rat. *Am J Physiol.* 1970;218(2). <http://ajplegacy.physiology.org/content/218/2/377>. Accessed July 11, 2017.
171. Varada KR, Harper RG, Wapnir RA. Development of copper intestinal absorption in the rat. *Biochem Med Metab Biol.* 1993;50(3):277-283. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8123292>. Accessed July 11, 2017.
172. Valko M, Morris H, Cronin MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005;12(10):1161-1208. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15892631>. Accessed July 11, 2017.
173. Gad SC. Cadmium. In: Elsevier Inc, ed. *Encyclopedia of Toxicology*. Vol ; 2005:375-377. <http://www.sciencedirect.com/science/article/B7T72-4H7THN8-PR/2/9e6a449a92c26adcb17fbf0ac44c202>.
174. Gad SC. Lead. In: Elsevier Inc., ed. *Encyclopedia of Toxicology*. Vol ; 2005:705-709. doi:10.1002/pauz.201000353.
175. Gad SC, Pham T. Mercury. In: Elsevier, ed. *Encyclopedia of Toxicology*. Vol ; 2014:207-210. doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00875-7.
176. Sharif AKM, Mustafa AI, Hossain MA, Amin MN, Safiullah S. Lead and cadmium contents in ten species of tropical marine fish from the Bay of Bengal. *Sci Total Environ.* 1993;133(1-2):193-199. doi:10.1016/0048-9697(93)90121-L.
177. Kraak MH, Scholten MC, Peeters WH, de Kock WC. Biomonitoring of heavy metals in the Western European Rivers Rhine and Meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Environ Pollut.* 1991;74(2):101-114. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15092067>. Accessed July 11, 2017.
178. DO L 350. DIRECTIVA 98/70/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO. 1998:58. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1998L0070:20031120:ES:PDF>.
179. B.O.E. nº 162. REAL DECRETO 785/2001, de 6 de julio, por el que se adelanta la prohibición de comercialización de las gasolinas con plomo y se establecen las especificaciones de las gasolinas que sustituirán a aquéllas. 2001:24775-24776.
180. Orío A, Pallarés M, Jiménez S, et al. Análisis de la calidad del aire en España- Evolución 2001-2012. *Subdirección Gen Calid del Aire y Medio Ambient Ind MAGRAMA*. 2013. <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-el-instituto/fd-organizacion/fd-estructura-directiva/fd-subdireccion-general-servicios-aplicados-formacion-investigacion/fd-centros-unidades/fd-centro-nacional-sanidad-ambiental/fd-servicios-cientifico-tecnicos>. Accessed September 23, 2015.



181. Garcia-Fernandez a. J, Martinez-Lopez E, Romero D, Maria-Mojica P, Godino a., Jimenez P. High levels of blood lead in griffon vultures (*Gyps fulvus*) from Cazorla Natural Park (southern Spain). *Environ Toxicol.* 2005;20(4):459-463. doi:10.1002/tox.20132.
182. Mateo R. Lead Poisoning in Wild Birds in Europe and the Regulations Adopted by Different Countries. In: Watson RT, Mark Fuller MP and, Hunt G, eds. *Ingestion of Lead from Spent Ammunition: Implications for Wildlife and Humans.* Vol ; 2009:71-98. doi:10.4080/ilsa.2009.0107.
183. Pattee OH, Hennes SK. Bald eagles and waterfowl: The lead shot connection. *Trans North Am Wildl Nat Resour Conf.* 1983;48:230-237. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5221827>. Accessed July 11, 2017.
184. Feierabend JS, Myers O. *A National Summary of Lead Poisoning in Bald Eagles and Waterfowl.* Vol (National Wildlife Federation, ed.). Washington, DC; 1984.
185. Cade T. Exposure of California Condors to lead from spent ammunition. *J Wildl Manage.* 2007;71(7):2125-2133. doi:10.2193/2007-084.
186. Johnson CK, Kelly TR, Rideout BA. Lead in ammunition: a persistent threat to health and conservation. *Ecohealth.* 2013;10(4):455-464. doi:10.1007/s10393-013-0896-5.
187. Unep. Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases, and Environmental Transport. *Unep.* 2013:42.
188. B.O.E. nº 37. REAL DECRETO 106/2008, de 1 de febrero, sobre pilas y acumuladores y la gestión ambiental de sus residuos. 2008:7399-7410.
189. B.O.E. nº 3. REAL DECRETO 1383/2002, de 20 de diciembre, sobre gestión de vehículos al final de su vida útil. 2003:185-191.
190. Burger J, Bowman R, Woolfenden GE, Gochfeld M. Metal and metalloid concentrations in the eggs of threatened Florida scrub-jays in suburban habitat from south-central Florida. *Sci Total Environ.* 2004;328(1-3):185-193. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.01.030.
191. Phillpotts CJ. Retention of cadmium in the duodenum of the rat following oral administration. *Toxicology.* 1979;14(3):245-253. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/542955>. Accessed July 11, 2017.
192. Schümann K, Elsenhans B, Schäfer S, Kolb K, Forth W. Cadmium absorption and its interaction with essential transition metals. *Toxicol Environ Chem.* 1990;27(1-3):81-90. doi:10.1080/02772249009357560.
193. Cain BW, Sileo L, Franson JC, Moore J. Effects of dietary cadmium on mallard ducklings. *Environ Res.* 1983;32(2):286-297. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6641666>. Accessed July 11, 2017.
194. Mautino M. Lead and zinc intoxication in zoological medicine: a review. *J Zoo Wildl Med.* 1997;28(1):28-35.
195. Pain DJ, Rattner B a. Mortality and hematology associated with the ingestion of one number four lead shot in black ducks, *Anas rubripes*. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1988;40(2):159-164. doi:10.1007/BF01881033.
196. Clemens ET, Krook L, Aronson AL, Stevens CE. Pathogenesis of lead shot poisoning in the mallard duck. *Cornell Vet.* 1975;65(2):248-285.



- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/236148>. Accessed July 11, 2017.
197. Lumeij JT. Clinicopathologic aspects of lead poisoning in birds: A review. *Vet Q*. 1985;7(2):133-138. doi:10.1080/01652176.1985.9693969.
 198. Tsuchiya K. Lead. In: Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB, eds. *Handbook on the Toxicology of Metals, Vol II, Specific Metals*. Vol New York: Elsevier Ltd; 1986:298-340.
 199. Franson J.C., Pain D.J. Lead in birds. In: Beyer WN, Meador JP, eds. *Environmental Contaminants in Biota : Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Boca Raton, Florida: CRC Press; 2011:563-593.
 200. Honda K, Nasu T, Tatsukawa R. Seasonal changes in mercury accumulation in the black-eared kite, *Milvus migrans lineatus*. *Environ Pollut Ser A, Ecol Biol*. 1986. doi:10.1016/0143-1471(86)90016-4.
 201. Redig PT, Arent LR. Raptor Toxicology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2008;11(2):261-282. doi:10.1016/j.cvex.2007.12.004.
 202. Español S. Toxicología del mercurio. actuaciones preventivas en sanidad laboral y ambiental. In: *Jornada Internacional Sobre El Impacto Ambiental Del Mercurio Utilizado Por La Minería Aurífera Artesanal En Iberoamérica*. Vol ; 2001:1-66.
 203. Piotrowski JK, Trojanowska B, Sapota A. Binding of cadmium and mercury by metallothionein in the kidneys and liver of rats following repeated administration. *Arch Toxicol*. 1974;32(4):351-360. doi:10.1007/BF00330118.
 204. Burger J. Food chain differences affect heavy metals in bird eggs in Barnegat Bay, New Jersey. *Environ Res*. 2002;90(1):33-39. doi:10.1006/enrs.2002.4381.
 205. Finley MT, Dieter MP. Influence of laying on lead accumulation in bone of mallard ducks. *J Toxicol Environ Health*. 1978;4(1):123-129. doi:10.1080/15287397809529649.
 206. Custer TW, Franson JC, Pattee OH. Tissue lead distribution and hematologic effects in American kestrels (*Falco sparverius* L.) fed biologically incorporated lead. *J Wildl Dis*. 1984;20(1):39-43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6716559>.
 207. Hoffman DJ, Franson JC, Pattee OH, Bunck CM, Murray HC. Biochemical and hematological effects of lead ingestion in nestling American kestrels (*Falco sparverius*). *Comp Biochem Physiol C*. 1985;80(2):431-439. doi:10.1016/0742-8413(85)90080-5.
 208. Burger J. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Sci Total Environ*. 2008;389(1):37-45. doi:10.1016/j.scitotenv.2007.08.037.
 209. Beyer WN, Spann JW, Sileo L, Franson JC. Lead poisoning in six captive avian species. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1988;17(1):121-130. doi:10.1007/BF01055162.
 210. Hoffman DJ, Franson JC, Pattee OH, Bunck CM, Anderson A. Survival, growth, and accumulation of ingested lead in nestling American Kestrels (*Falco sparverius*). *Arch Environ Contam Toxicol*. 1985;14(1):89-94. doi:10.1007/BF01055766.
 211. Robinson S a., Lajeunesse MJ, Forbes MR. Sex differences in mercury contamination of birds: Testing multiple hypotheses with meta-analysis. *Environ Sci Technol*. 2012;46(13):7094-7101. doi:10.1021/es204032m.
 212. Redig PT, Lawler EM, Schwartz S, Dunnette JL, Stephenson B, Duke GE. Effects of chronic



- exposure to sublethal concentrations of lead acetate on heme synthesis and immune function in red-tailed hawks. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1991;21(1):72-77. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1898120>. Accessed July 11, 2017.
213. Carpenter JW, Pattee OH, Fritts SH, et al. Experimental lead poisoning in turkey vultures (*Cathartes aura*). *J Wildl Dis*. 2003;39(1):96-104. doi:10.7589/0090-3558-39.1.96.
214. García-Fernández a. J, Romero D, Martínez-López E, Navas I, Pulido M, María-Mojica P. Environmental lead exposure in the European kestrel (*Falco tinnunculus*) from southeastern Spain: The influence of leaded gasoline regulations. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2005;74(2):314-319. doi:10.1007/s00128-004-0586-7.
215. Hernández-García A. In vitro evaluation of effects induced by lead, cadmium and their binary mixtures on erythrocytes of three species of wild birds. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. 2010.
216. Wiener JG, Spry DJ. Toxicological significance of mercury in freshwater fish. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood A. W., eds. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Boca Raton, Florida: Lewis Publishers; 1996:297-339. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/85651>. Accessed July 11, 2017.
217. Lavoie RA, Baird CJ, King LE, Kyser TK, Friesen VL, Campbell LM. Contamination of mercury during the wintering period influences. Concentrations at breeding sites in two migratory piscivorous birds. *Environ Sci Technol*. 2014;48:13694-13720.
218. Gochfeld M, Burger J. Heavy metal concentrations in the liver of three duck species: Influence of species and sex. *Environ Pollut*. 1987;45(1):1-15. doi:10.1016/0269-7491(87)90012-1.
219. Debacker V, Schiettecatte LS, Jauniaux T, Bouquegneau JM. Influence of age, sex and body condition on zinc, copper, cadmium and metallothioneins in common guillemots (*Uria aalge*) stranded at the Belgian coast. *Mar Environ Res*. 2001;52(5):427-444. doi:10.1016/S0141-1136(01)00096-4.
220. Barjaktarovic L, Elliott JE, Scheuhammer a. M. Metal and metallothionein concentrations in scoter (*Melanitta spp.*) from the Pacific Northwest of Canada, 1989-1994. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2002;43(4):486-491. doi:10.1007/s00244-002-1273-5.
221. Pattee OH. Eggshell thickness and reproduction in American kestrels exposed to chronic dietary lead. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1984;13(1):29-34. doi:10.1007/BF01055643.
222. Gochfeld M, Belant JL, Shukla T, Benson T, Burger J. Heavy metals in laughing gulls: Gender, age and tissue differences. *Environ Toxicol Chem*. 1996;15(12):2275-2283.
223. Pain DJ, Amiard-Triquet C. Lead poisoning of raptors in France and elsewhere. *Ecotoxicol Environ Saf*. 1993;25(2):183-192. doi:S0147651383710171 [pii].
224. Debacker V, Jauniaux T, Coignoul F, Bouquegneau JM. Heavy metals contamination and body condition of wintering guillemots (*Uria aalge*) at the Belgian coast from 1993 to 1998. *Environ Res*. 2000;84(3):310-317. doi:10.1006/enrs.2000.4087.
225. Hilmy AM, El Domiaty NA, Daabees AY, Alsarha A. The toxicity to *Clarias lazera* of copper and zinc applied jointly. *Comp Biochem Physiol Part C Comp Pharmacol*. 1987;87(2):309-314. doi:10.1016/0742-8413(87)90013-2.
226. Freeland JH, Cousins RJ. Effect of dietary cadmium on anemia, iron absorption, and



- cadmium binding protein in the chick. *Nutr Rep Int.* 1973;8(5):337-347. <https://eurekamag.com/research/000/069/000069488.php>.
227. Scheuhammer a. M. Influence of reduced dietary calcium on the accumulation and effects of lead, cadmium, and aluminum in birds. *Environ Pollut.* 1996;94(3):337-343. doi:10.1016/S0269-7491(96)00084-X.
228. Longcore JR, Locke LN, Bagley GE, Andrews R. Significance of Lead Residues in Mallard Tissues. In: *Special Scientific Report -- Wildlife*. Vol U.S. Fish and Wildl Serv Spec Scient Report Wildl ; 1974:1-24. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5230137>.
229. Koranda J, Moore K, Stuart M, Conrado C. *Dietary Effects on Lead Uptake and Trace Element Distribution in Mallard Ducks Dosed with Lead Shot.*; 1979. <https://www.osti.gov/scitech/biblio/6368641>.
230. Stendell RC. Dietary Exposure of Kestrels to Lead. *J Wildl Manag.* 1980;44(2):527-530. doi:10.2307/3807995.
231. Mateo R, Estrada J, Paquet JY, et al. Lead shot ingestion by marsh harriers *Circus aeruginosus* from the Ebro delta, Spain. *Environ Pollut.* 1999;104(3):435-440. doi:10.1016/S0269-7491(98)00169-9.
232. Garcia-Fernandez AJ, Martinez-Lopez E, Romero D, Maria-Mojica P, Godino A, Jimenez P. High levels of blood lead in griffon vultures (*Gyps fulvus*) from Cazorla natural park (southern Spain). *Environ Toxicol.* 2005;20(4):459-463. doi:10.1002/tox.20132.
233. Eagles-Smith C a., Ackerman JT. Mercury bioaccumulation in estuarine wetland fishes: Evaluating habitats and risk to coastal wildlife. *Environ Pollut.* 2014;193:147-155. doi:10.1016/j.envpol.2014.06.015.
234. Conover MR, Vest JL. Selenium and mercury concentrations in California gulls breeding on the Great Salt Lake, Utah, USA. *Environ Toxicol Chem.* 2009;28(2):324-329. doi:10.1897/08-214.1.
235. Espín S, Martínez-López E, León-Ortega M, Martínez JE, García-Fernández AJ. Oxidative stress biomarkers in Eurasian eagle owls (*Bubo bubo*) in three different scenarios of heavy metal exposure. *Environ Res.* 2014;131:134-144. doi:10.1016/j.envres.2014.03.015.
236. Blanco G, Frías O, Jiménez B, Gómez G. Factors influencing variability and potential uptake routes of heavy metals in black kites exposed to emissions from a solid-waste incinerator. *Environ Toxicol Chem.* 2003;22(11):2711-2718. doi:10.1897/02-519.
237. Hutton M, Goodman GT. Metal contamination of feral pigeons *Columba livia* from the London area: Part 1—tissue accumulation of lead, cadmium and zinc. *Environ Pollut Ser A, Ecol Biol.* 1980;22(3):207-217. doi:10.1016/0143-1471(80)90015-X.
238. Kendall RJ, Scanlon PF. The toxicology of lead shot ingestion in ringed turtle doves under conditions of cold exposure. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1984;5(4-5):183-192.
239. Buerger TT, Mirarchi RE, Lisano ME. Effects of Lead Shot Ingestion on Captive Mourning Dove Survivability and Reproduction. *Source J Wildl Manag.* 1986;50(1):1-8. <http://www.jstor.org/stable/3801479>. Accessed September 10, 2017.
240. Selye H. The evolution of the stress concept. *Am Sci.* 61(6):692-699.
241. Kendall RJ, Jr. TEL, Bunck C, et al. An ecological risk assessment of lead shot exposure in



- non-waterfowl avian species: Upland game birds and raptors. *Environ Toxicol Chem.* 1996;15(1):4-20. doi:10.1002/etc.5620150103.
242. Martínez Menchón M. Las ramblas del Campo de Cartagena. Problemática ambiental de la Laguna del Mar Menor. *Rev Murc Antropol.* 2007;14:63-76.
243. García G, Muñoz-Vera A. Characterization and evolution of the sediments of a Mediterranean coastal lagoon located next to a former mining area. *Mar Pollut Bull.* 2015;100(1):249-263. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.08.042.
244. Eisler R. Cadmium Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. In: U.S. Fish and Wildlife Service, ed. *Contaminant Hazard Reviews.* Vol 85. ; 1985. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5200065>.
245. Godwin HA. The biological chemistry of lead. *Curr Opin Chem Biol.* 2001;5(2):223-227. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11282351>. Accessed July 11, 2017.
246. Henny CJ, Blus LJ, Hoffman DJ, Grove R a. Lead in hawks, falcons and owls downstream from a mining site on the Coeur d'Alene River, Idaho. *Environ Monit Assess.* 1994;29(3):267-288. doi:10.1007/BF00547991.
247. Martínez-Haro M, Green AJ, Mateo R. Effects of lead exposure on oxidative stress biomarkers and plasma biochemistry in waterbirds in the field. *Environ Res.* 2011;111(4):530-538. doi:10.1016/j.envres.2011.02.012.
248. Espín S, Martínez-López E, Jiménez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Delta-aminolevulinic acid dehydratase (δ ALAD) activity in four free-living bird species exposed to different levels of lead under natural conditions. *Environ Res.* 2015;137:185-198. doi:10.1016/j.envres.2014.12.017.
249. Espín S, Martínez-López E, Jiménez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Interspecific differences in the antioxidant capacity of two Laridae species exposed to metals. *Environ Res.* 2016;147:115-124. doi:10.1016/j.envres.2016.01.029.
250. Rozman RS, Locke LN, McClure SF. Enzyme changes in Mallard ducks fed iron or lead shot. *Avian Dis.* 1974;18(3):435-445.
251. Kertész V, Hlubik I. Plasma ALP activity and blood PCV value changes in chick fetuses due to exposure of the egg to different xenobiotics. *Environ Pollut.* 2002;117(2):323-327. doi:10.1016/S0269-7491(01)00179-8.
252. Mateo R, Beyer WN, Spann JW, Hoffman DJ, Ramis A. Relationship between oxidative stress, pathology, and behavioral signs of lead poisoning in mallards. *J Toxicol Environ Health A.* 2003;66(14):1371-1389. doi:10.1080/15287390306390.
253. Hoffman DJ, Pattee OH, Wiemeyer SN, Mulhern B. Effects of lead shot ingestion on delta-aminolevulinic acid dehydratase activity, hemoglobin concentration, and serum chemistry in bald eagles. *J Wildl Dis.* 1981;17(3):423-431. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7310952>. Accessed July 11, 2017.
254. Hoffman DJ, Spalding MG, Frederick PC. Subchronic effects of methylmercury on plasma and organ biochemistries in great egret nestlings. *Environ Toxicol Chem.* 2005;24(12):3078-3084. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16445088>. Accessed July 11, 2017.
255. George Cherian M, Goyer RA. Metallothioneins and their role in the metabolism and toxicity of metals. *Life Sci.* 1978;23(1):1-9. doi:10.1016/0024-3205(78)90317-X.



256. Gil F, Pla A. Biomarkers as biological indicators of xenobiotic exposure. *J Appl Toxicol*. 2001;21(4):245-255. doi:10.1002/jat.769.
257. Locke LN, Bagley GE, Irby HD. Acid-Fast Intranuclear Inclusion Bodies in the Kidneys of Mallards Fed Lead Shot. *Bull Wildl Dis Assoc*. 1966;2(4):127-131. doi:10.7589/0090-3558-2.4.127.
258. Pattee OH, Wiemeyer SN, Mulhern BM, Sileo L, Carpenter JW. Experimental Lead-Shot Poisoning in Bald Eagles. *J Wildl Manage*. 1981;45(3):806-810. doi:10.2307/3808728.
259. Romero D, Hernández-García a., Tagliati C a., Martínez-López E, García-Fernández a. J. Cadmium- and lead-induced apoptosis in mallard erythrocytes (*Anas platyrhynchos*). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2009;72(1):37-44. doi:10.1016/j.ecoenv.2008.05.004.
260. Scoville S a., Lane OP. Cerebellar abnormalities typical of methylmercury poisoning in a fledged saltmarsh sparrow, *Ammodramus caudacutus*. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2013;90(5):616-620. doi:10.1007/s00128-013-0974-y.
261. Hoffman DJ, Smith GJ, Rattner B a. Biomarkers of contaminant exposure in common terns and black-crowned night herons in the Great Lakes. *Environ Toxicol Chem*. 1993;12(6):1095-1103. doi:10.1897/1552-8618(1993)12[1095:BOCEIC]2.0.CO;2.
262. Henderson BM, Winterfield RW. Acute copper toxicosis in the Canada goose. *Avian Dis*. 1975;19(2):385-387. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1156262>. Accessed July 11, 2017.
263. Poupoulis C, Jensen LS. Effect of high dietary copper on gizzard integrity of the chick. *Poult Sci*. 1976;55(1):113-121. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/934976>. Accessed May 11, 2017.
264. Jensen LS, Maurice DV. Effect of Methionine on Copper-Induced Growth Depression and Gizzard Erosion. *Poult Sci*. 1978;57(6):1530-1532. doi:10.3382/ps.0571530.
265. Droual R, Meteyer CU, Galey FD. Zinc toxicosis due to ingestion of a penny in a gray-headed chachalaca (*Oreortyx cinereiceps*). *Avian Dis*. 35(4):1007-1011. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1785995>. Accessed July 11, 2017.
266. Zdziarski JM, Mattix M, Bush RM, Montali RJ. Zinc Toxicosis in Diving Ducks. *J Zoo Wildl Med*. 1994;25(3):438-445. <http://www.jstor.org/stable/20095396>.
267. Beyer WN, Dalgarn J, Dudding S, et al. Zinc and lead poisoning in wild birds in the Tri-State Mining District (Oklahoma, Kansas, and Missouri). *Arch Environ Contam Toxicol*. 2004;48(1):108-117. doi:10.1007/s00244-004-0010-7.
268. Hoffman DJ, Heinz GH, Sileo L, Audet DJ, Campbell JK, LeCaptain LJ. Developmental toxicity of lead-contaminated sediment to mallard ducklings. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2000;39(2):221-232. doi:10.1007/s002440010099.
269. Spahn SA, Sherry TW. Cadmium and lead exposure associated with reduced growth rates, poorer fledging success of little blue heron chicks (*Egretta caerulea*) in south Louisiana wetlands. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1999;37(3):377-384. doi:10.1007/s002449900528.
270. Burger J, Gochfeld M. Behavioral Impairments of Lead-Injected Young Herring Gulls in Nature. *Fundam Appl Toxicol*. 1994;23(4):553-561. doi:10.1006/faat.1994.1140.
271. Burger J. Effects of lead on sibling recognition in young herring gulls. *Toxicol Sci*.



- 1998;43(2):155-160. doi:10.1006/toxs.1998.2451.
272. Heinz GH, Hoffman DJ, Klimstra JD, Stebbins KR, Kondrad SL, Erwin CA. Teratogenic effects of injected methylmercury on avian embryos. *Environ Toxicol Chem.* 2011;30(7):1593-1598. doi:10.1002/etc.530.
273. Exon JH. The immunotoxicity of selected environmental chemicals, pesticides and heavy metals. - Semantic Scholar. *Prog Clin Biol Res.* 1984;161:355-368. <https://www.semanticscholar.org/paper/The-immunotoxicity-of-selected-environmental-chemi-Exon/1a7e83f4daaff68ecd3f5aed3f592df6d4283ee6>. Accessed July 11, 2017.
274. Trust KA, Miller MW, Ringelman JK, Orme IM. Effects of ingested lead on antibody production in mallards (*Anas platyrhynchos*). *J Wildl Dis.* 1990;26(3):316-322. doi:10.7589/0090-3558-26.3.316.
275. Rocke TE, Samuel MD. Effects of lead shot ingestion on selected cells of the mallard immune system. *J Wildl Dis.* 1991;27(1):1-9. doi:10.7589/0090-3558-27.1.1.
276. Fair JM, Myers OB. The ecological and physiological costs of lead shot and immunological challenge to developing western bluebirds. *Ecotoxicology.* 2002;11(3):199-208. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12092753>. Accessed July 11, 2017.
277. Koller LD. Immunotoxicology of heavy metals. *Int J Immunopharmacol.* 1980;2(4):269-279. doi:10.1016/0192-0561(80)90027-2.
278. Snoeijs T, Dauwe T, Pinxten R, Vandesande F, Eens M. Heavy metal exposure affects the humoral immune response in a free-living small songbird, the great tit (*Parus major*). *Arch Environ Contam Toxicol.* 2004;46(3):399-404. doi:10.1007/s00244-003-2195-6.
279. Fairbrother A, Smits J, Grasman K. *Avian Immunotoxicology.* Vol 7. 2004. doi:10.1080/10937400490258873.
280. Grasman KA, Scanlon PF. Effects of acute lead ingestion and diet on antibody and T-cell-mediated immunity in Japanese quail. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1995;28(2):161-167. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7710288>. Accessed July 11, 2017.
281. Descotes J. Immunotoxicity of Chemicals. In: *Immunotoxicology of Drugs and Chemicals.* Vol Amsterdam. New York.: Elsevier Ltd; 1988:297-441.
282. Baos R, Jovani R, Pastor N, et al. Evaluation of genotoxic effects of heavy metals and arsenic in wild nestling white storks (*Ciconia ciconia*) and black kites (*Milvus migrans*) from southwestern Spain after a mining accident. *Environ Toxicol Chem.* 2006;25(10):2794-2803. doi:10.1897/05-570r.1.
283. Pastor N, López-Lázaro M, Tella JL, Baos R, Hiraldo F, Cortés F. Assessment of genotoxic damage by the comet assay in white storks (*Ciconia ciconia*) after the Donana Ecological Disaster. *Mutagenesis.* 2001;16(3):219-223. doi:10.1093/mutage/16.3.219.
284. Eeva T, Belskii E, Kuranov B. Environmental pollution affects genetic diversity in wild bird populations. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen.* 2006;608(1):8-15. doi:10.1016/j.mrgentox.2006.04.021.
285. Oro D, Ruxton GD. The formation and growth of seabird colonies: Audouin's gull as a case study. *J Anim Ecol.* 2001;70(3):527-535. doi:10.1046/j.1365-2656.2001.00511.x.
286. Janssens E, Dauwe T, Pinxten R, Eens M. Breeding performance of great tits (*Parus major*)



- along a gradient of heavy metal pollution. *Environ Toxicol Chem.* 2003;22(5):1140-1145. doi:10.1002/etc.5620220524.
287. Becares, J; Arcos, J.M. y Oró D. *Migración Y Ecología Espacial de La Gaviota de Audouin En El Mediterráneo Occidental Y Noroeste Africano. Monografía N.º 1 Del Programa Migra.;* 2016.
https://www.seo.org/boletin/seguimiento/migracion/01_gaviota_audouin/pdf/Migra_1_Gaviota_de_Audouin.pdf.
288. Heinz G. Methylmercury: reproductive and behavioral effects on three generations of mallard ducks. *J Wildl Manage.* 1979;43(2):394-401. <http://www.jstor.org/stable/3800348>.
289. Eisler R. Mercury hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. *US Fish Wildl Serv.* 1987;85(10):1-63. doi:10.5962/bhl.title.11357.
290. Thompson D. Mercury in bird and mammals. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, eds. *Environmental Contaminants in Wildlife : Interpreting Tissue Concentrations.* Vol Boca Raton, FL, USA: Lewis Publishers; 1996:341-356. <https://www.crcpress.com/Environmental-Contaminants-in-Wildlife-Interpreting-Tissue-Concentrations/Meador/p/book/9781566700719>. Accessed July 11, 2017.
291. Nocera JJ, Taylor PD. In Situ Behavioral Response of Common Loons Associated with Elevated Mercury (Hg) Exposure. *Conserv Ecol.* 1998;2(2):art10. doi:10.5751/ES-00066-020210.
292. Janssens E, Dauwe T, Van Duyse E, Beernaert J, Pinxten R, Eens M. Effects of Heavy Metal Exposure on Aggressive Behavior in a Small Territorial Songbird. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2003;45(1):121-127. doi:10.1007/s00244-002-0133-7.
293. White DH, Finley MT. Uptake and retention of dietary cadmium in mallard ducks. *Environ Res.* 1978;17(1):53-59. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/318505>. Accessed July 11, 2017.
294. Edens FW, Garlich JD. Lead-induced egg production decrease in Leghorn and Japanese quail hens. *Poult Sci.* 1983;62(9):1757-1763. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6634605>. Accessed July 11, 2017.
295. Furness R. Cadmium in birds. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, eds. *Environmental Contaminants in Wildlife : Interpreting Tissue Concentrations.* Vol Boca Raton, FL, USA: CRC Press; 1996:389-404. <https://www.crcpress.com/Environmental-Contaminants-in-Wildlife-Interpreting-Tissue-Concentrations/Meador/p/book/9781566700719>. Accessed July 11, 2017.
296. Dauwe T, Janssens E, Kempenaers B, Eens M. The effect of heavy metal exposure on egg size, eggshell thickness and the number of spermatozoa in blue tit *Parus caeruleus* eggs. *Environ Pollut.* 2004;129(1):125-129. doi:10.1016/j.envpol.2003.09.028.
297. Nyholm NEI. Influence of Heavy Metal Exposure During Different Phases of the Ontogeny on the Development of Pied Flycatchers, *Ficedula hypoleuca*, in Natural Populations. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1998;35:632-637. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s002449900425.pdf>. Accessed July 11, 2017.
298. Bunn TL, Marsh JA, Dietert RR. Gender differences in developmental immunotoxicity to lead in the chicken; analysis following a single early low-level exposure in ovo. *J Toxicol*



- Environ Heal Part A*. 2000;61(8):677-693. doi:10.1080/00984100050195152.
299. Evers DC, Savoy LJ, DeSorbo CR, et al. Adverse effects from environmental mercury loads on breeding common loons. *Ecotoxicology*. 2008;17(2):69-81. doi:10.1007/s10646-007-0168-7.
300. Potts GR, Aebischer N. Modelling the population dynamics of the grey partridge: conservation and management. In: Perrins CM, Lebreton JD, Hirons GJM, eds. *Bird Population Studies: Their Relevance to Conservation Management*. Vol Oxford: Oxford University Press; 1991:373–390.
301. Pelton MR, Van Manen FT. Benefits and Pitfalls of Long-Term Research: A Case Study of Black Bears in Great Smoky. *Wildl Soc Bull Predators (Autumn)*. 1996;24(3):443-450. <http://www.jstor.org/stable/3783325>. Accessed July 11, 2017.
302. Lindenmayer DB, Likens GE. Adaptive monitoring: a new paradigm for long-term research and monitoring. *Trends Ecol Evol*. 2009;24(9):482-486. doi:10.1016/j.tree.2009.03.005.
303. Oro D, Hernández N, Jover L, Genovart M. From recruitment to senescence: Food shapes the age-dependent pattern of breeding performance in a long-lived bird. *Ecology*. 2014;95(2):446-457. doi:10.1890/13-0331.1.
304. Maceda-Veiga A, Green AJ, De Sostoa A. Scaled body-mass index shows how habitat quality influences the condition of four fish taxa in north-eastern Spain and provides a novel indicator of ecosystem health. *Freshw Biol*. 2014;59(6):1145-1160. doi:10.1111/fwb.12336.
305. Evers DC, Reaman P, DeSorbo CR, Phifer P. Assessing the impacts of methylmercury on piscivorous wildlife as indicated by the Common Loon. *Unpubl Rep Submitt to Maine Dept*. 2001;2000(March):1-55. http://www.fws.gov/newengland/pdfs/Mercury_loons_2000.pdf.
306. Ramírez A. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *An la Fac Med Univ Nac Mayor San Marcos*. 2002;63(1):51-64. doi:10.15381/anales.v63i1.1477.
307. Braune BM, Gaskin DE. A mercury budget for the Bonaparte's Gull during autumn moult. *Ornis Scand*. 1987;(18):244-250. <http://www.jstor.org/stable/pdf/3676891.pdf?refreqid=excelsior%253A0056867a6f1607fdd6f8e642139aee14>. Accessed June 8, 2017.
308. Burger J, Gochfeld M. Biomonitoring of heavy metals in the pacific basin using avian feathers. *Environ Toxicol Chem*. 1995;14(7):1233-1239. doi:10.1002/etc.5620140716.
309. Sanpera C, Moreno R, Ruiz X, Jover L. Audouin's gull chicks as bioindicators of mercury pollution at different breeding locations in the western Mediterranean. *Mar Pollut Bull*. 2007;54(6):691-696. doi:10.1016/j.marpolbul.2007.01.016.
310. Honda K, Marcovecchio JE, Kan S, Tatsukawa R, Ogi H. Metal concentrations in pelagic seabirds from the North Pacific Ocean. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1990;19(5):704-711. doi:10.1007/BF01183988.
311. Burger J, Gochfeld M. Age Differences in Metals in the Blood of Herring. *Environ Toxicol Chem*. 1997;440:436-440.
312. Phillips GR, Lenhart TE, Gregory RW. Relation between trophic position and mercury accumulation among fishes from the Tongue River Reservoir, Montana. *Environ Res*.



- 1980;22(1):73-80. doi:10.1016/0013-9351(80)90120-6.
313. Henny CJ, Blus LJ, Hoffman DJ, Grove RA, Hatfield JS. Lead accumulation and osprey production near a mining site on the Coeur d'Alene River, Idaho. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1991;21(3):415-424. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5222583>. Accessed July 11, 2017.
314. Rattner B a., Golden NH, Toschik PC, McGowan PC, Custer TW. Concentrations of metals in blood and feathers of nestling ospreys (*Pandion haliaetus*) in Chesapeake and Delaware Bays. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2008;54(1):114-122. doi:10.1007/s00244-007-9004-6.
315. Langner HW, Greene E, Domenech R, Staats MF. Mercury and Other Mining-Related Contaminants in Ospreys Along the Upper Clark Fork River, Montana, USA. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2012;62(4):681-695. doi:10.1007/s00244-011-9732-5.
316. Jagoe CH, Bryan AL, Brant HA, Murphy TM, Brisbin IL. Mercury in Bald Eagle nestlings from south Carolina, USA. *J Wildl Dis*. 2002;38(4):706-712. doi:10.7589/0090-3558-38.4.706.
317. Ikemoto T, Kunito T, Tanabe S, Tsurumi M, Sato F, Oka N. Non-destructive monitoring of trace element levels in short-tailed albatrosses (*Phoebastria albatrus*) and black-footed albatrosses (*Phoebastria nigripes*) from Torishima Island, Japan using eggs and blood. *Mar Pollut Bull*. 2005;51(8-12):889-895. doi:10.1016/j.marpolbul.2005.06.003.
318. Gangoso L, Álvarez-Lloret P, Rodríguez-Navarro A a B, Mateo R, Hiraldo F, Donázar JA. Long-term effects of lead poisoning on bone mineralization in vultures exposed to ammunition sources. *Environ Pollut*. 2009;157(2):569-574. doi:10.1016/j.envpol.2008.09.015.
319. Donázar JA, Palacios CJ, Gangoso L, Ceballos O, González MJ, Hiraldo F. Conservation status and limiting factors in the endangered population of Egyptian vulture (*Neophron percnopterus*) in the Canary Islands. *Biol Conserv*. 2002;107(1):89-97. doi:10.1016/S0006-3207(02)00049-6.
320. Eagles-Smith CA, Ackerman JT, Adelsbach TL, Takekawa JY, Miles AK, Keister RA. Mercury correlations among six tissues for four waterbird species breeding in San Francisco Bay, California, USA. *Environ Toxicol Chem*. 2008;27(10):2136. doi:10.1897/08-038.1.
321. Stout JD, Brinker DF, Driscoll CP, Davison S, Murphy L a. Serum biochemistry values, plasma mineral levels, and whole blood heavy metal measurements in wild northern goshawks (*Accipiter gentilis*). *J Zoo Wildl Med*. 2010;41(4):649-655. doi:10.1638/2009-0258.1.
322. Gómez-Ramírez P. El Búho real (*Bubo bubo*) como especie biomonitora de contaminantes ambientales persistentes en el sureste de España. *Tesis Dr Eur Univ Murcia*. 2011:313.
323. Shlosberg A, Wu Q, Rumbelha WK, et al. Examination of Eurasian Griffon Vultures (*Gyps fulvus fulvus*) in Israel for Exposure to Environmental Toxicants Using Dried Blood Spots. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2012;62(3):502-511. doi:10.1007/s00244-011-9709-4.
324. Espín S, Martínez-López E, Jiménez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Effects of heavy metals on biomarkers for oxidative stress in Griffon vulture (*Gyps fulvus*). *Environ Res*. 2014;129:59-68. doi:10.1016/j.envres.2013.11.008.
325. Tsao DC, Miles AK, Takekawa JY, Woo I. Potential Effects of Mercury on Threatened California Black Rails. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2009;56(2):292-301. doi:10.1007/s00244-008-9188-4.



326. Tavares PC, Monteiro LR, Lopes RJ, Correia Santos MM, Furness RW. Intraspecific variation of mercury contamination in chicks of black-winged stilt (*Himantopus himantopus*) in coastal wetlands from southwestern Europe. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2004;72(3):437-444. doi:10.1007/s00128-001-0265-8.
327. Eagles-Smith CA, Ackerman JT, De La Cruz SEW, Takekawa JY. Mercury bioaccumulation and risk to three waterbird foraging guilds is influenced by foraging ecology and breeding stage. *Environ Pollut*. 2009;157(7):1993-2002. doi:10.1016/j.envpol.2009.03.030.
328. Hargreaves AL, Whiteside DP, Gilchrist G. Concentrations of 17 elements, including mercury, in the tissues, food and abiotic environment of arctic shorebirds. *Sci Total Environ*. 2011;409(19):3757-3770. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.06.043.
329. Gochfeld M. Mercury levels in some seabirds of the Humboldt Current, Peru. *Environ Pollut Ser A, Ecol Biol*. 1980;22(3):197-205. doi:10.1016/0143-1471(80)90014-8.
330. Stoneburner DL, Patty PC, Robertson WB. Evidence of heavy metal accumulations in Sooty Terns. *Sci Total Environ*. 1980;14(2):147-152. doi:10.1016/0048-9697(80)90070-4.
331. de la Casa-Resino I, Hernández-Moreno D, Castellano A, Pérez-López M, Soler F. Breeding near a landfill may influence blood metals (Cd, Pb, Hg, Fe, Zn) and metalloids (Se, As) in white stork (*Ciconia ciconia*) nestlings. *Ecotoxicology*. 2014:1377-1386. doi:10.1007/s10646-014-1280-0.
332. Scheuhammer a M. Monitoring wild bird populations for lead exposure. *J Name J Wildl Manag (USA); J Vol 533*. 1989;53(3):Medium: X; Size: Pages: 759-765.
333. Wayland M, Garcia-Fernandez a. J, Neugebauer E, Gilchrist HG. Concentrations of cadmium, mercury and selenium in blood, liver and kidney of common eider ducks from the Canadian arctic. *Environ Monit Assess*. 2001;71(3):255-267. doi:10.1023/A:1011850000360.
334. McBride J, Smith P, Gross P, Hooper J. Blood-lead and ALAD activity levels of Cooper's Hawks (*Accipiter cooperii*) migrating through the southern Rocky Mountains. *Raptor Res*. 2004;38(2):118-124.
335. Burger *, †, M. Gochfeld J, Gochfeld M. Age Differences in Metals in the Blood of Herring (*Larus argentatus*) and Franklin's (*Larus pipixcan*) Gulls. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1997;33(4):436-440. doi:10.1007/s002449900274.
336. Kahle S, Becker PH. Bird blood as bioindicator for mercury in the environment. *Chemosphere*. 1999;39(14):2451-2457. doi:10.1016/S0045-6535(99)00154-X.
337. Benito V, Devesa V, Muñoz O, et al. Trace elements in blood collected from birds feeding in the area around Donana National Park affected by the toxic spill from the Aznalcollar mine. *Sci Total Environ*. 1999;242(1-3):309-323. doi:10.1016/S0048-9697(99)00398-8.
338. Thompson DR, Dowding JE. Site-Specific Heavy Metal Concentrations in Blood of South Island Pied Oystercatchers *Haematopus ostralegus finschi* from the Auckland Region, New Zealand. *Mar Pollut Bull*. 1999;38(3):202-206. doi:10.1016/S0025-326X(98)00169-6.
339. Hernández M, Margalida A. Assessing the risk of lead exposure for the conservation of the endangered Pyrenean bearded vulture (*Gypaetus barbatus*) population. *Environ Res*. 2009;109(7):837-842. doi:10.1016/j.envres.2009.05.001.
340. Kramer JL, Redig PT. Sixteen Years of Lead Poisoning in Eagles, 1980-95: An Epizootiologic



- View. *J Raptor Res.* 1997;31(4):327-332.
341. Redig PT, Stowe CM, Barnes DM, Arent TD. Lead toxicosis in raptors. *J Am Vet Med Assoc.* 1980;177(9):941-943. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7451351>. Accessed July 11, 2017.
342. Pattee OH, Carpenter JW, Fritts SH, et al. Lead poisoning in captive Andean condors (*Vultur gryphus*). *J Wildl Dis.* 2006;42(4):772-779.
343. Langelier KM, Andress CE, Grey TK, Wooldridge C, Lewis RJ, Marchetti R. Lead poisoning in bald eagles in British Columbia. *Can Vet J.* 1991;32:108-109. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1480957/pdf/canvetj00063-0046.pdf>. Accessed July 11, 2017.
344. Bowerman WW, Giesy JR, Best DA, Kramer VJ. A Review of Factors Affecting Productivity of Bald Eagles in the Great Lakes Region : Implications for Recovery. *Environ Health Perspect.* 1995;103(4):51-59.
345. Świergosz R, Kowalska A. Cadmium accumulation and its effects in growing pheasants *Phasianus colchicus* (L.). *Environ Toxicol Chem.* 2000;19(11):2742-2750.
346. Evers DC. Status assessment and conservation plan for the Common loon (*Gavia immer*) in North America. *US Fish Wildl Serv.* 2004:1-87. https://www.fws.gov/alaska/mbsp/mbm/loons/pdf/Common_Loon_Status_Assessment.pdf.
347. Burgess NM, Meyer MW. Methylmercury exposure associated with reduced productivity in common loons. *Ecotoxicology.* 2008;17(2):83-91. doi:10.1007/s10646-007-0167-8.
348. Evers D, Lane O, Savoy L, Goodale W. Assessing the impacts of methylmercury on piscivorous wildlife using a wildlife criterion value based on the Common Loon, 1998-2003. (*Report BRI2004-05*). 2004. file:///C:/Users/PEDRO/Downloads/2004-05_Eversetal.pdf.
349. Evers DC, Reaman P. A comparison of mercury exposure and risk between artificial impoundments and natural lakes measured in Common Loons and their prey, 1996-97. *Fish Wildl Serv.* 1998:47. <https://catalog.data.gov/dataset/a-comparison-of-mercury-exposure-and-risk-between-artificial-impoundments-and-natural-l-19>.
350. Gilbert RW, Sander JE, Brown TP, et al. Case Report- Copper Sulfate Toxicosis in Commercial Laying Hens. *Avian Dis.* 1994;40(1):236-239.
351. García-Fernández AJ, Navas I, Martínez-López E, et al. Niveles de zinc y cobre en aves silvestres procedentes de centros de recuperación ¿sirven para monitorizar contaminación ambiental? *Rev Toxicol.* 2005;22:115.
352. Ewan R. Toxicology and adverse effects of mineral imbalance with emphasis on selenium and other minerals. In: Oehme FW, ed. *Toxicity of Heavy Metals in the Environment Part 1*. Vol New York: M. Dekker; 1978:445-489. https://books.google.es/books/about/Toxicity_of_heavy_metals_in_the_environment.html?id=HFhRAAAAMAAJ&redir_esc=y.
353. Sileo L, Nelson Beyer W, Mateo R. Pancreatitis in wild zinc-poisoned waterfowl. *Avian Pathol.* 2003;32(6):655-660. doi:10.1080/03079450310001636246.
354. Goede a. a. Mercury, selenium, arsenic and zinc in waders from the Dutch Wadden Sea. *Environ Pollut Ser A Ecol Biol.* 1985;37(4):287-309. doi:10.1016/0143-1471(85)90119-9.



355. Carpenter JW, Andrews G a, Beyer WN. Zinc toxicosis in a free-flying trumpeter swan (*Cygnus buccinator*). *J Wildl Dis.* 2004;40(4):769-774. doi:10.7589/0090-3558-40.4.769.
356. White H. B. Maternal diet, maternal proteins and egg quality. In: Deeming DC, Ferguson MWJ, eds. *Egg Incubation : Its Effects on Embryonic Development in Birds and Reptiles*. Vol Cambridge University Press; 1991:1-5.
357. Richards MP. Trace mineral metabolism in the avian embryo. *Poult Sci.* 1997;76(1):152-164.
358. Dauwe T, Bervoets L, Blust R, Pinxten R, Eens M. Are eggshells and egg contents of Great and Blue Tits suitable as indicators of heavy metal pollution? *Belgian J Zool.* 1999;129(2):439-447.
359. Burger J. Heavy metals in avian eggshells: Another excretion method. *J Toxicol Environ Health.* 1994;41(2):207-220. doi:10.1080/15287399409531837.
360. Morera M, Sanpera C, Crespo S, Jover L, Ruiz X. Inter- and intraclutch variability in heavy metals and selenium levels in Audouin's Gull eggs from the Ebro Delta, Spain. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1997;33(1):71-75. doi:10.1007/s002449900225.
361. Mora M a. Heavy metals and metalloids in egg contents and eggshells of passerine birds from Arizona. *Environ Pollut.* 2003;125(3):393-400. doi:10.1016/S0269-7491(03)00108-8.
362. Romanoff AL, Romanoff AJ. *Biochemistry of the Avian Embryo: A Quantitative Analysis of Prenatal Development*. Vol (John Wiley & Sons, ed.). New York: Interscience Publishers; 1967.
https://books.google.es/books/about/Biochemistry_of_the_avian_embryo.html?id=emW1AAAAIAAJ&redir_esc=y. Accessed July 11, 2017.
363. Gilbertson M, Kubiak T, Ludwig J, Fox G. Great lakes embryo mortality, edema, and deformities syndrome (GLEMEDS) in colonial fish-eating birds: Similarity to chick-edema disease. *J Toxicol Environ Health.* 1991;33(4):455-520. doi:10.1080/15287399109531538.
364. Elliott JE, Martin PA, Arnold TW, Sinclair PH. Organochlorines and reproductive success of birds in orchard and non-orchard areas of central British Columbia, Canada, 1990-91. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1994;26(4):435-443. doi:10.1007/BF00214144.
365. McCarty JP, Secord AL. Nest-Building Behavior in PCB-Contaminated Tree Swallows. *The Auk.* 1999;116(1):55-63. <http://www.jstor.org/stable/4089453>. Accessed July 11, 2017.
366. Fernie KJ, Shutt JL, Letcher RJ, Ritchie JI, Sullivan K, Bird DM. Changes in reproductive courtship behaviors of adult american kestrels (*Falco sparverius*) exposed to environmentally relevant levels of the polybrominated diphenyl ether mixture, DE-71. *Toxicol Sci.* 2008;102(1):171-178. doi:10.1093/toxsci/kfm295.
367. Mora M a., Auman HJ, Ludwig JP, Giesy JP, Verbrugge D a., Ludwig ME. Polychlorinated biphenyls and chlorinated insecticides in plasma of Caspian terns: Relationships with age, productivity, and colony site tenacity in the great lakes. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1993;24(3):320-331. doi:10.1007/BF01128730.
368. Fry DM. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environ Health Perspect.* 1995;103(SUPPL. 7):165-171. doi:10.1289/ehp.95103s7165.
369. Van den Steen E, Pinxten R, Jaspers VLB, et al. Brominated flame retardants and organochlorines in the European environment using great tit eggs as a biomonitoring tool.



- Environ Int.* 2009;35(2):310-317. doi:10.1016/j.envint.2008.08.002.
370. Ramón Vaquero L. Evaluación de la exposición a contaminantes ambientales persistentes (Cd y Zn) en cáscara de huevos de Aguilucho cenizo (*Circus pygargus*) de diferentes provincias andaluzas. *TFM Univ Murcia*. 2009.
371. Lam JCW, Tanabe S, Lam MHW, Lam PKS. Risk to breeding success of waterbirds by contaminants in Hong Kong: evidence from trace elements in eggs. *Environ Pollut.* 2005;135(3):481-490. doi:10.1016/j.envpol.2004.11.021.
372. Gochfeld M. Environmental contamination and toxicology spatial patterns in a bioindicator: Heavy Metal and Selenium concentration in eggs of Herring Gulls (*Larus argentatus*) in the New York Bight. *Arch Env Contam Toxicol.* 1997;33:63-70.
373. Ayaş Z, Kkan HÇEL, Aksu ML. Lead (Pb) and Copper (Cu) Concentration in the Eggshells of Audouin ' s Gulls (*Larus audouinii*) in Turkey. *J Zool.* 2008;32:379-384.
374. Kim J, Oh J-M. Trace element concentrations in eggshells and egg contents of black-tailed gull (*Larus crassirostris*) from Korea. *Ecotoxicology.* 2014;23(7):1147-1152. doi:10.1007/s10646-014-1256-0.
375. Ayaş Z. Trace element residues in eggshells of grey heron (*Ardea cinerea*) and black-crowned night heron (*Nycticorax nycticorax*) from Nallihan Bird Paradise, Ankara-Turkey. *Ecotoxicology.* 2007;16(4):347-352. doi:10.1007/s10646-007-0132-6.
376. Swaileh KM, Sansur R. Monitoring urban heavy metal pollution using the House Sparrow (*Passer domesticus*). *J Environ Monit.* 2006;8(1):209-213. doi:10.1039/b510635d.
377. Metcheva R, Yurukova L, Teodorova SE. Biogenic and toxic elements in feathers, eggs, and excreta of Gentoo penguin (*Pygoscelis papua ellsworthii*) in the Antarctic. *Environ Monit Assess.* 2011;182(1-4):571-585. doi:10.1007/s10661-011-1898-9.
378. Ansara-Ross TM, Ross MJ, Wepener V. The use of feathers in monitoring bioaccumulation of metals and metalloids in the South African endangered African grass-owl (*Tyto capensis*). *Ecotoxicology.* 2013;22(6):1072-1083. doi:10.1007/s10646-013-1095-4.
379. Dauwe T, Lieven B, Ellen J, Rianne P, Ronny B, Marcel E. Great and blue tit feathers as biomonitors for heavy metal pollution. *Ecol Indic.* 2002;1(4):227-234. doi:10.1016/S1470-160X(02)00008-0.
380. Grue CE, Hoffman DJ, Nelson Beyer W, Franson LP. Lead concentrations and reproductive success in European starlings *Sturnus vulgaris* nesting within highway roadside verges. *Environ Pollut Ser A, Ecol Biol.* 1986;42(2):157-182. doi:10.1016/0143-1471(86)90005-X.
381. Lodenius M, Solonen T. The use of feathers of birds of prey as indicators of metal pollution. *Ecotoxicology.* 2013;22(9):1319-1334. doi:10.1007/s10646-013-1128-z.
382. Kim EY, Goto R, Tanabe S, Tanaka H, Tatsukawa R. Distribution of 14 elements in tissues and organs of oceanic seabirds. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1998;35(4):638-645. doi:10.1007/s002449900426.
383. Grúz A, Szemerédy G, Kormos É, et al. Monitoring of heavy metal burden in mute swan (*Cygnus olor*). *Environ Sci Pollut Res Int.* June 2015. doi:10.1007/s11356-015-4809-8.
384. Burger, J; Gochfeld M. Metal levels in feathers of cormorants, flamingos and gulls from the coast of Namibia in southern Africa. *Environ Monit Assess.* 2001;69(2):195-203.



385. Burger J, Gochfeld M, Burger J, Gochfeld M. Comparison of arsenic, cadmium, chromium, lead, manganese, mercury and selenium in feathers in bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*), and comparison with common eider (*Somateria mollissima*), glaucous-winged gull (*Larus glaucescens*), pigeon guillemot (*Cepp.* *Env Monit Assess.* 2009;152:357-367. doi:10.1007/s10661-008-0321-7.
386. Solonen T, Lodenius M, Tulisalo E. Metal levels of feathers in birds of various food chains in southern Finland. *Ornis Fenn.* 1999;76:25-32. https://www.researchgate.net/profile/Tapio_Solonen/publication/258246241_Metal_levels_of_feathers_in_birds_of_various_food_chains_in_southern_Finland/links/0deec52a9a6d5c5538000000.pdf. Accessed July 11, 2017.
387. Ribeiro a. R, Eira C, Torres J, et al. Toxic element concentrations in the razorbill alca torda (*Charadriiformes, Alcidae*) in Portugal. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2009;56(3):588-595. doi:10.1007/s00244-008-9215-5.
388. García-Tarrasón M, Pacho S, Jover L, Sanpera C. Anthropogenic input of heavy metals in two Audouin's gull breeding colonies. *Mar Pollut Bull.* 2013;74(1):285-290. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.06.043.
389. Movalli P a. Heavy metal and other residues in feathers of laggar falcon *Falco biarmicus* jugger from six districts of Pakistan. *Environ Pollut.* 2000;109(2):267-275. doi:10.1016/S0269-7491(99)00258-4.
390. Denneman WD, Douben PET. Trace metals in primary feathers of the barn owl (*Tyto alba guttatus*) in the Netherlands. *Environ Pollut.* 1993;82:301-310.
391. Naccari C, Cristani M, Cimino F, Arcoraci T, Trombetta D. Common buzzards (*Buteo buteo*) bio-indicators of heavy metals pollution in Sicily (Italy). *Environ Int.* 2009;35(3):594-598. doi:10.1016/j.envint.2008.11.002.
392. Lewis SA, Furness RW. Mercury accumulation and excretion in laboratory reared black-headed gull (*Larus ridibundus*) chicks. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1991;21(2):316-320. doi:10.1007/BF01055352.
393. Finley MT, Stendell RC. Survival and reproductive success of black ducks fed methyl mercury. *Environ Pollut.* 1978;16(1):51-64. doi:10.1016/0013-9327(78)90137-4.
394. Solonen T, Lodenius M. Mercury in Finnish Sparrowhawks *Accipiter nisus*. *Ornis Fenn.* 1984;61:58-63. https://www.researchgate.net/profile/Tapio_Solonen/publication/258246429_Mercury_in_Finnish_Sparrowhawks_Accipiter_nisus/links/546b8a920cf2397f7831c36d/Mercury-in-Finnish-Sparrowhawks-Accipiter-nisus.pdf?origin=publication_detail. Accessed July 11, 2017.
395. Bowerman WW, Evans ED, Giesy JP, Postupalsky S. Using feathers to assess risk of mercury and selenium to bald eagle reproduction in the Great Lakes region. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1994;27(3):294-298. doi:10.1007/BF00213162.
396. Scheuhammer a M. Effects of acidification on the availability of toxic metals and calcium to wild birds and mammals. *Environ Pollut.* 1991;71(2-4):329-375. doi:10.1016/0269-7491(91)90036-V.
397. Eisler R. *Mercury Hazards to Living Organisms*. CRC Press/Taylor & Francis; 2006. <https://doi.org/10.1201/9781420008838>. Accessed July 12, 2017.



398. Albuja L, Daniel Montalvo L, Cáceres F, Jácome N. Niveles de mercurio en aves silvestres de tres regiones mineras. *Rev Politécnica*. 2012;30(3):18-32. <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5239/1/Mercurio-Aves-Ecuador2012Politecnica30%283%29.pdf>. Accessed July 12, 2017.
399. Franson JC. Interpretation of tissue lead residues in birds other than waterfowl. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, eds. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Vol SETAC; 1996:265-280. <https://www.crcpress.com/Environmental-Contaminants-in-Wildlife-Interpreting-Tissue-Concentrations/Meador/p/book/9781566700719>. Accessed July 12, 2017.
400. Burger J, Gochfeld M. Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *Sci Total Environ*. 2000;257(1):37-52. doi:10.1016/S0048-9697(00)00496-4.
401. Herrera A, Arino A, Conchello P, et al. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty foodstuffs. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1996;56(2):173-177. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8720087>. Accessed July 12, 2017.
402. Jones KC, De Voogt P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ Pollut*. 1999;100(1-3):209-221. http://ac.els-cdn.com/S0269749199000986/1-s2.0-S0269749199000986-main.pdf?_tid=50fb8790-850f-11e7-9a3d-00000aacb360&acdnat=1503168829_a7705c94581c24800cd6755d15803baf.
403. Van Wyk E, Bouwman H, Van Der Bank H, Verdoorn GH, Hofmann D. Persistent organochlorine pesticides detected in blood and tissue samples of vultures from different localities in South Africa. *Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol*. 2001;129(3):243-264. doi:10.1016/S1532-0456(01)90201-7.
404. Álvarez D, Cruz M. Contaminación agraria difusa. In: *Unidades Temáticas Ambientales de La Secretaría General Del Medio Ambiente*. Vol MOPU; 1989.
405. Konstantinou I., Goutner V, Albanis T. The incidence of polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide residues in the eggs of the cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*): an evaluation of the situation in four Greek wetlands of international importance. *Sci Total Environ*. 2000;257(1):61-79. doi:10.1016/S0048-9697(00)00500-3.
406. Koeman JH, Ten Noever De Brauw MC, De Vos RH. Chlorinated Biphenyls in Fish, Mussels and Birds from the River Rhine and the Netherlands Coastal Area. *Nature*. 1969;221(5186):1126-1128. doi:10.1038/2211126a0.
407. Bogan JA, Bourne WRP. Organochlorine Levels in Atlantic Seabirds. *Nature*. 1972;240(5380):358-358. doi:10.1038/240358a0.
408. María-Mojica P. Biomonitorización de la exposición a insecticidas organoclorados en aves rapaces de la Región de Murcia. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. 1998.
409. Dikshith TSS. *Toxicology of Pesticides in Animals*. Florida: CRC Press; 1991. [https://books.google.es/books?id=QewdXlPdV5UC&pg=PP9&lpg=PP9&dq=Toxicology+of+pesticides+in+animals&source=bl&ots=3aTPgdBJbT&sig=Rq6R9TbtXR-g2NnmZovQW5h1dao&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Toxicology of pesticides in animals&f=false](https://books.google.es/books?id=QewdXlPdV5UC&pg=PP9&lpg=PP9&dq=Toxicology+of+pesticides+in+animals&source=bl&ots=3aTPgdBJbT&sig=Rq6R9TbtXR-g2NnmZovQW5h1dao&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Toxicology+of+pesticides+in+animals&f=false). Accessed July 12, 2017.
410. Blus LJ. Organochlorine pesticides. In: Hoffman D, Rattner B, Burton G, Cairns Jj, eds.



- Handbook of Ecotoxicology 2nd Edition*. Vol Boca Raton, Florida pp: CRC Press; 2003:313-339.
411. Newton I, Wyllie I, Asher A. Long-term trends in organochlorine and mercury residues in some predatory birds in Britain. *Environ Pollut.* 1993;79(2):143-151. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15091899>. Accessed July 12, 2017.
412. Smith AG. Chlorinated hydrocarbon insecticides. In: Hayes WJJ, Laws ERJ, eds. *Handbook of Pesticides Toxicology*. Vol San Diego: Academic Press; 1991:731-915.
413. Keller E. The DDT story. *Chemistry (Easton)*. 1970;43:8-12.
414. WHO. *Action Plan for the Reduction of Reliance on DDT in Disease Vector Control. Protection of the Human Environment Water, Sanitation and Health*. Geneva; 2001.
415. D.O.U.E. nº 158. Reglamento (CE) Nº 850/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004, sobre contaminantes orgánicos persistentes y por el que se modifica la Directiva 79/117/CE. 2004:7-49.
416. Van Den Berg H. Global status of DDT and its alternatives for use in vector control to prevent disease. *Environ Health Perspect.* 2009;117(11):1656-1663. doi:10.1289/ehp.0900785.
417. MAPA. (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). 2008. <http://www.mapa.es/es/agricultura/pags/fitos/registro/introregistro.htm>.
418. Calvelo Pereira R. Estudio del comportamiento del hexaclorociclohexano en el sistema suelo-planta para su aplicación en técnicas de fitocorrección. Tesis Doctoral. Universidade de Santiago de Compostela. 2008. https://books.google.es/books?id=PaHR-oZ_nEOC&pg=PA40&lpg=PA40&dq=hexaclorociclohexano+en+españa+2007&source=bl&ots=6ZPJEgYqRW&sig=oYFa4AUZdyI7xTxG_vOjgwFhSaA&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=hexaclorociclohexano+en+españa+2007&f=false.
419. Copeland MF, Chadwick RW. Bioisomerization of lindane in rats. *J Environ Pathol Toxicol.* 1979;2(3):737-749. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/84852>. Accessed July 12, 2017.
420. Carnaghan RBA, Blaxland JD. The toxic effect of certain seed-dressings on wild and game birds. *Vet Rec.* 1957;69:324-325. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19571404485>. Accessed July 12, 2017.
421. Turtle EE, Taylor A, Wright EN, et al. The effects on birds of certain chlorinated insecticides used as seed dressings. *J Sci Food Agric.* 1963;14(8):567-577. doi:10.1002/jsfa.2740140807.
422. Blus LJ, Henny CJ, Lenhart DJ. Effects of Heptachlor- and Lindane-Treated Seed on Canada Geese. *J Wildl Manage.* 1984;48(4):1097-1111. <http://www.jstor.org/stable/3801771>.
423. Sauter EA, Steele EE. The effect of low level pesticide feeding on the fertility and hatchability of chicken eggs. *Poult Sci.* 1972;51(1):71-76. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4118725>. Accessed July 12, 2017.
424. D.O.U.E. nº 3/Vol 15. Directiva 79/117/CEE del Consejo, de 21 de diciembre de 1978, relativa a la prohibición de salida al mercado y de utilización de productos fitosanitarios que contengan determinadas sustancias activas. 1979:126-130.
425. D.O.U.E. nº 317. Decisión de la Comisión, de 2 de diciembre de 2005, relativa a la no



- inclusión del endosulfán en el anexo I de la Directiva 91/414/CEE del Consejo y a la retirada de las autorizaciones de los productos fitosanitarios que contengan esta sustancia activa. 2005:25-28.
426. Barberá C. *Pesticidas Agrícolas*. Vol (Ediciones OMEGA, ed.). Barcelona, España; 1989.
 427. Bann JM, Decino TJ, Earle NW. The Fate of Aldrin and Dieldrin in the Animal Body. *J Agric Food Chem*. 1956;4:937-941. <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf60069a003>. Accessed July 12, 2017.
 428. Cohen AJ, Smith JN. Fate of Aldrin and Dieldrin in Locusts. *Nature*. 1961;189(4764):600-601. doi:10.1038/189600b0.
 429. Bollen WB, Roberts JE, Morrison HE. Soil Properties and Factors Influencing Aldrin-Dieldrin Recovery and Transformation. *J Econ Entomol*. 1958;51(2):214-219. doi:10.1093/jee/51.2.214.
 430. Peakall DB. Disrupted patterns of behavior in natural populations as an index of ecotoxicity. *Environ Health Perspect*. 1996;104(SUPPL. 2):331-335. doi:10.1289/ehp.96104s2331.
 431. Matsumura F. *Toxicology of Insecticides*. New York: Plenum Press; 1985.
 432. B.O.E. n° 41. ORDEN de 4 de febrero de 1994 por la que se prohíbe la comercialización y utilización de plaguicidas de uso ambiental que contienen determinados ingredientes activos peligrosos. 1993:5132.
 433. UNEP (United Nations Environmental Programme). *The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*; 2001. <http://www.chem.unep.ch/sc/default.htm>.
 434. Barber JL, Sweetman AJ, Van Wijk D, Jones KC. Hexachlorobenzene in the global environment: Emissions, levels, distribution, trends and processes. *Sci Total Environ*. 2005;349(1-3):1-44. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.03.014.
 435. Bailey RE. Global hexachlorobenzene emissions. *Chemosphere*. 2001;43(2):167-182. doi:10.1016/S0045-6535(00)00186-7.
 436. Arrebola JP, Martin-olmedo P, Fernandez MF, et al. Predictors of concentrations of hexachlorobenzene in human adipose tissue: A multivariate analysis by gender in Southern Spain. *Environ Int*. 2009;35(1):27-32. doi:10.1016/j.envint.2008.05.009.
 437. Breivik K, Alcock R, Li YF, Bailey RE, Fiedler H, Pacyna JM. Primary sources of selected POPs: Regional and global scale emission inventories. *Environ Pollut*. 2004;128(1-2):3-16. doi:10.1016/j.envpol.2003.08.031.
 438. Jacoff FS, Scarberry R, Rosa D. Source assessment of hexachlorobenzene from the organic chemical manufacturing industry. *IARC Sci Publ*. 1986;(77):31-37. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3596719>. Accessed July 12, 2017.
 439. Hoffman DJ, Melancon MJ, Klein PN, et al. Developmental toxicity of PCB 126 (3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl) in nestling American kestrels (*Falco sparverius*). *Fundam Appl Toxicol*. 1996;34(2):188-200. doi:10.1006/faat.1996.0189.
 440. Hoffman DJ, Rattner BA, Scheunert I, Korte F. Environmental contaminants. In: Shore RF, Rattner BA, eds. *Ecotoxicology of Wild Mammals*. Vol Chichester: Wiley; 2001:1-49.



441. Rice CP, O'Keefe PW, Kubiak TJ. Sources, pathways and effects of PCBs, dioxins and dibenzofurans. In: Hoffman DJ. BA., Rattner G, Burton, A Jr.; Cairns JJ, eds. *Handbook of Ecotoxicology*. Vol 2nd Editio. Boca Raton, Florida,; CRC Press. Lewis Publishers; 2003:501-573.
442. Holoubek I. Polychlorinated biphenyl (PCB) contaminated sites worldwide. In: Robertson L, Hansen L, eds. *PCBs: Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects*. Vol The University Press of Kentucky; 2001:17-26. http://uknowledge.uky.edu/upk_medicine_and_health_sciences/8. Accessed July 12, 2017.
443. B.O.E. n° 93. RESOLUCIÓN de 9 de abril de 2001, de la Secretaría General de Medio Ambiente, por la que se dispone la publicación del Acuerdo de Consejo de Ministros, de 6 de abril de 2001, por el que se aprueba el Plan Nacional de Descontaminación y Eliminación de Polic. 2001:14076-14085.
444. B.O.E. n° 48. REAL DECRETO 228/2006, de 24 de febrero, por el que se modifica el Real Decreto 1378/1999, de 27 de agosto, por el que se establecen medidas para la eliminación y gestión de los policlorobifenilos, policloroterfenilos y aparatos que los contengan. 2006:7781-7788.
445. Hansen LG, M Th Tuinstra LG, Kan CA, T W A Strik JJ, Koeman JH. Accumulation of Chlorobiphenyls in Chicken Fat and Liver after Feeding Aroclor 1254 Directly or Fat from Swine Fed Aroclor 1254. *J Agric Food Chem*. 1983;31:254-260. <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf00116a017>. Accessed July 12, 2017.
446. Hansen LG. Food chain modification of the composition and toxicity of polychlorinated biphenyl residues. In: Hodgson E, ed. *Reviews in Environmental Toxicology. Vol 3*. Vol New York. USA.: Elsevier; 1987:149-212.
447. Norstrom RJ. Bioaccumulation of Polychlorinated Biphenyls in Canadian Wildlife. In: *Hazards, Decontamination, and Replacement of PCB*. Vol Boston, MA: Springer US; 1988:85-100. doi:10.1007/978-1-4613-0747-1_5.
448. Guruge KS, Tanabe S. Congener specific accumulation and toxic assessment of polychlorinated biphenyls in common cormorants, phalacrocorax carbo, from Lake Biwa, Japan. *Environ Pollut*. 1997;96(3):425-433. doi:10.1016/S0269-7491(97)00045-6.
449. Bunyan PJ, Page JMJ. Polychlorinated biphenyls. The effect of structure on the induction of quail hepatic microsomal enzymes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1978;43(3):507-518. doi:10.1016/S0041-008X(78)80010-6.
450. Brunn H. Elimination and distribution of 2,2',4,5'-tetrachlorobiphenyl in laying hens. *Food Chem Toxicol*. 1984;22(8):689-691. doi:10.1016/0278-6915(84)90281-3.
451. Drouillard KG. Modeling the toxicokinetics and biomagnification of polychlorinated biphenyls (PCBs) in birds. Thesis. Trent University. 2000. <http://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk3/ftp04/NQ58001.pdf>.
452. Kunisue T, Tanabe S. Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of mammals and birds from Japan: Lower chlorinated OH-PCBs and profiles. *Chemosphere*. 2009;74:950-961. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.10.038.
453. Borgå, K; Wolkers, H; Skaare, J; Hop, H; Muir, D; Gabrielsen G. Bioaccumulation of PCBs in Arctic seabirds: influence of dietary exposure and congener biotransformation. *Environ*



- Pollut.* 2005;134(3):397-409. http://ac.els-cdn.com/S0269749104003884/1-s2.0-S0269749104003884-main.pdf?_tid=194175ca-84d9-11e7-a0dc-00000aacb35d&acdnat=1503145542_5fb776b6a953938bbd7583d7640bb435.
454. Heath DF, Vandekar M. Toxicity and metabolism of Dieldrin in rats. *Br J Ind Med.* 1964;21(4):269-279. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14249895>. Accessed July 12, 2017.
455. Dean JR, Ma R. Approaches to assess the oral bioaccessibility of persistent organic pollutants: A critical review. 2007. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.03.054.
456. Keller WC, Yeary RA. A Comparison of the Effects of Mineral Oil, Vegetable Oil, and Sodium Sulfate on the Intestinal Absorption of DDT in Rodents. *Clin Toxicol.* 1980;16(2):223-231. doi:10.3109/15563658008989941.
457. Palin KJ, Wilson CG, Davis SS, Phillips AJ. The effect of oils on the lymphatic absorption of DDT. *J Pharm Pharmacol.* 1982;34(11):707-710. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6129299>. Accessed July 12, 2017.
458. Smith E, Weber J, Rofe A, Gancarz D, Naidu R, Juhasz AL. Assessment of DDT Relative Bioavailability and Bioaccessibility in Historically Contaminated Soils Using an in Vivo Mouse Model and Fed and Unfed Batch in Vitro Assays. *Environ Sci Technol.* 2012;46(5):2928-2934. doi:10.1021/es203030q.
459. Smith A. Toxicology of organochlorine insecticides. In: Marrs TC, Ballantyne B, eds. *Pesticide Toxicology and International Regulation*. Vol West Sussex, England: J. Wiley; 2004:25-87.
460. Henriksen EO, Gabrielsen GW, Skaare JU. Levels and congener pattern of polychlorinated biphenyls in kittiwakes (*Rissa tridactyla*), in relation to mobilization of body-lipids associated with reproduction. *Environ Pollut.* 1996;92(1):27-37. doi:10.1016/0269-7491(95)00087-9.
461. Bickel MH. The role of adipose tissue in the distribution and storage of drugs. In: *Progress in Drug Research / Fortschritte Der Arzneimittelforschung / Progrès Des Recherches Pharmaceutiques*. Vol Basel: Birkhäuser Basel; 1984:273-303. doi:10.1007/978-3-0348-7118-1_8.
462. Kawai S, Fukushima M, Miyazaki N, Tatsukawa R. Relationship between lipid composition and organochlorine levels in the tissues of striped dolphin. *Mar Pollut Bull.* 1988;19(3):129-133. doi:10.1016/0025-326X(88)90709-6.
463. Subramanian A, Tanabe S, Hidaka H, Tatsukawa R. Bioaccumulation of organochlorines (PCBs and p,p'-DDE) in Antarctic Adelia penguins *Pygoscelis adeliae* collected during a breeding season. *Environ Pollut Ser A, Ecol Biol.* 1986;40(2):173-189. doi:10.1016/0143-1471(86)90082-6.
464. Borlakoglu JT, Haegele KD. Comparative aspects on the bioaccumulation, metabolism and toxicity with PCBs. *Comp Biochem Physiol - C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 1991;100(3):327-338. doi:10.1016/0742-8413(91)90004-D.
465. Boon JP, Van Arnhem E, Jansen S, et al. The Toxicokinetics of PCBs in Marine Mammals with Special Reference to Possible Interactions of Individual Congeners with the Cytochrome P450-dependent Monooxygenase System: an Overview. In: Walker CH, Livingstone DR, Lipnick R., eds. *Persistent Pollutants in Marine Ecosystems*. Vol Oxford,



- New York, Seoul, Tokyo: Pergamon Press; 1992:119-159.
<http://citeweb.info/19920024048>.
466. Walker CH. Biochemical responses as indicators of toxic effects of chemicals in ecosystems. *Toxicol Lett.* 1992;64-65 Spec No:527-533. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1471205>. Accessed July 12, 2017.
467. Eisler R. *Polychlorinated Biphenyl Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review.*; 1986. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5200068>.
468. Jensen AA. Chemical contaminants in human milk. *Residue Rev.* 1983;89:1-128. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6316441>. Accessed July 12, 2017.
469. Gobas FAPC, Kelly BC, Arnot JA. Quantitative Structure Activity Relationships for Predicting the Bioaccumulation of POPs in Terrestrial Food-Webs. *QSAR Comb Sci.* 2003;22(3):329-336. doi:10.1002/qsar.200390022.
470. Wong MH, Leung AOW, Chan JKY, Choi MPK. A review on the usage of POP pesticides in China, with emphasis on DDT loadings in human milk. *Chemosphere.* 2005;60(6):740-752. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.04.028.
471. Lignell S, Aune M, Darnerud O, Cnattingius S, Glynn A. Persistent organochlorine and organobromine compounds in mother's milk from Sweden 1996–2006: Compound-specific temporal trends. *Environ Res.* 2009;109:760-767. doi:10.1016/j.envres.2009.04.011.
472. Bargar T a, Scott GI, Cobb GP. Maternal transfer of contaminants: case study of the excretion of three polychlorinated biphenyl congeners and technical-grade endosulfan into eggs by white Leghorn chickens (*Gallus domesticus*). *Environ Toxicol Chem.* 2001;20(1):61-67. doi:10.1002/etc.5620200106.
473. Ross MS, Verreault J, Letcher RJ, Gabrielsen GW, Wong CS. Chiral organochlorine contaminants in blood and eggs of glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) from the Norwegian Arctic. *Environ Sci Technol.* 2008;42(19):7181-7186. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18939544>. Accessed July 12, 2017.
474. Van den Steen E, Eens M, Jaspers VLB, Covaci A, Pinxten R. Effects of laying order and experimentally increased egg production on organic pollutants in eggs of a terrestrial songbird species, the great tit (*Parus major*). *Sci Total Environ.* 2009;407(16):4764-4770. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.04.045.
475. Tore C. Svendsen, * †, Katrin Vorkamp ‡, Marie Frederiksen ‡, Bent Rønsholdt † and, Friert † J-O. Body Burdens of Persistent Halogenated Compounds during Different Development Stages of Anadromous Brown Trout (*Salmo trutta*). *Environ Sci Technol.* 2007;41(17):5980-5985. doi:10.1021/ES070746Y.
476. Alava JJ, Keller JM, Kucklick JR, Wyneken J, Crowder L, Scott GI. Loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) egg yolk concentrations of persistent organic pollutants and lipid increase during the last stage of embryonic development. *Sci Total Environ.* 2006;367(1):170-181. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.02.029.
477. Drouillard KG, Norstrom RJ, Fox GA, Gilman A, Peakall DB. Development and validation of a herring gull embryo toxicokinetic model for PCBs. *Ecotoxicology.* 2003;12(519):55-68. doi:10.1023/A:1022588913171.
478. Matthews HB, Domanski JJ, Guthrie FE. Hair and its Associated Lipids as an Excretory Pathway for Chlorinated Hydrocarbons. *Xenobiotica.* 1976;6(7):425-429.



- doi:10.3109/00498257609151655.
479. Espín S, Martínez-López E, Gómez-Ramírez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Assessment of organochlorine pesticide exposure in a wintering population of razorbills (*Alca torda*) from the southwestern Mediterranean. *Chemosphere*. 2010;80(10):1190-1198. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.06.015.
480. Brink NW Van Den, Franeker J a Van, Ruiters-Dijkman EM De. Fluctuating concentrations of organochlorine pollutants during a breeding season in two Antarctic seabirds: Adelie penguin and southern fulmar. *Environ Toxicol Chem*. 1998;17(4):702-709. doi:10.1002/etc.5620170426.
481. Parkinson A, Mudra DR, Johnson C, Dwyer A, Carroll KM. The effects of gender, age, ethnicity, and liver cirrhosis on cytochrome P450 enzyme activity in human liver microsomes and inducibility in cultured human hepatocytes. 2004. doi:10.1016/j.taap.2004.01.010.
482. Waxman DJ, Holloway MG. Sex Differences in the Expression of Hepatic Drug Metabolizing Enzymes. *Mol Pharmacol*. 2009;76(2):215-228. doi:10.1124/mol.109.056705.
483. Conney AH, Bubns JJ. Factors Influencing Drug Metabolism. In: Parkhurst SG, ed. *Advances in Pharmacology, Volume 1*. Vol Academic Press; 1962:31-58. doi:10.1016/S1054-3589(08)60507-4.
484. Kamataki T, Maeda K, Shimada M, Kitani K, Nagai T, Kato R. Age-Related Alteration in the Activities of Drug-Metabolizing Enzymes and Contents of Sex-Specific Forms of Cytochrome P-450 in Liver Microsomes from Male and Female Rats1. *J Pharmacol Exp Ther*. 1985;233(1):222-228. <http://jpet.aspetjournals.org/content/jpet/233/1/222.full.pdf>. Accessed August 19, 2017.
485. Tanabe S. A need for reevaluation of PCB toxicity. *Mar Pollut Bull*. 1989;20:247-248.
486. Wienburg CL, Shore RF. Factors influencing liver PCB concentrations in sparrowhawks (*Accipiter nisus*), kestrels (*Falco tinnunculus*) and herons (*Ardea cinerea*) in Britain. *Environ Pollut*. 2004;132(1):41-50. doi:10.1016/j.envpol.2004.03.027.
487. Pinzone M, Budzinski H, Tasciotti A, et al. POPs in free-ranging pilot whales, sperm whales and fin whales from the Mediterranean Sea: Influence of biological and ecological factors. 2015. doi:10.1016/j.envres.2015.06.021.
488. Stendell RC, Beyer WN, Stehn RA. Accumulation of Lead and Organochlorine Residues in Captive American Kestrels Fed Pine Voles from Apple Orchards. *J Wildl Dis*. 1989;25(3):388-391. doi:10.7589/0090-3558-25.3.388.
489. María-Mojica P. El Cernícalo vulgar (*Falco tinnunculus*) como biomonitor de la contaminación ambiental por insecticidas organoclorados en la Región de Murcia. Tesina de Licenciatura, Universidad de Murcia. 1996.
490. Elliott JE, Shutt L. Monitoring organochlorines in blood of sharp-shinned hawks (*Accipiter striatus*) migrating through the great lakes. *Environ Toxicol Chem*. 1993;12(2):241-250. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620120207>.
491. Bustnes JO, Bakken V, Skaare JU, Erikstad KE. Age and accumulation of persistent organochlorines: a study of Arctic-breeding glaucous gulls (*Larus hyperboreus*). *Environ Toxicol Chem*. 2003;22(9):2173-2179. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12959547>. Accessed July 12, 2017.



492. Walker CH, Newton I, Hallam SD, Ronis MJ. Activities and toxicological significance of hepatic microsomal enzymes of the kestrel (*Falco tinnunculus*) and sparrowhawk (*Accipiter nisus*). *Comp Biochem Physiol C*. 1987;86(2):379-382. doi:10.1016/0742-8413(87)90099-5.
493. Fossi MC, Massi a., Lari L, et al. Interspecific differences in mixed function oxidase activity in birds: A tool to identify "species at risk." *Sci Total Environ*. 1995;171(1-3):221-226. doi:10.1016/0048-9697(95)04679-1.
494. Elliott JE, Kennedy SW, Peakall DB, Won H. Polychlorinated biphenyl (PCB) effects on hepatic mixed function oxidases and porphyria in birds. I. Japanese quail. *Comp Biochem Physiol Part C Comp Pharmacol*. 1990;96(1):205-210. doi:10.1016/0742-8413(90)90069-L.
495. Elliott JE, Kennedy SW, Lorenzen A. Comparative toxicity of polichlorinated biphenyls to Japanese Quail (*Coturnix c. japonica*) and American Kestrels (*Falco sparverius*). *J Toxicol Environ Health*. 1997;51(1):57-75. doi:10.1080/00984109708984011.
496. Hoffman DJ, Melancon MJ, Klein PN, Eisemann JD, Spann JW. Comparative developmental toxicity of planar polychlorinated biphenyl congeners in chickens, American kestrels and common terns. *Environ Toxicol Chem*. 1998;17(4):747-757. doi:10.1897/1551-5028(1998)017<0747:CDTOPP>2.3.CO;2.
497. Hoshi H, Minamoto N, Iwata H, et al. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl congeners in wild terrestrial mammals and birds from Chubu region, Japan: interspecies comparison of the residue levels and compositions. *Chemosphere*. 1998;36(15):3211-3221. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9747520>. Accessed July 12, 2017.
498. Kunisue T, Minh TB, Fukuda K, Watanabe M, Tanabe S, Titenko AM. Seasonal variation of persistent organochlorine accumulation in birds from Lake Baikal, Russia, and the role of the south Asian region as a source of pollution for wintering migrants. *Environ Sci Technol*. 2002;36(7):1396-1404. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11999042>. Accessed July 12, 2017.
499. Prestt I, Jefferies DJ, Moore NW. Polychlorinated biphenyls in wild birds in Britain and their avian toxicity. *Environ Pollut*. 1970;1(1):3-26. doi:10.1016/0013-9327(70)90003-0.
500. Elliott KH, Cesh LS, Dooley J a., Letcher RJ, Elliott JE. PCBs and DDE, but not PBDEs, increase with trophic level and marine input in nestling bald eagles. *Sci Total Environ*. 2009;407(12):3867-3875. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.02.027.
501. Lambeck RHD, Nieuwenhuize J, van Liere JM. Polychlorinated biphenyls in oystercatchers (*Haematopus ostralegus*) from the oosterschelde (Dutch Delta area) and the Western Wadden Sea, that died from starvation during severe winter weather. *Environ Pollut*. 1991;71(1):1-16. doi:10.1016/0269-7491(91)90040-4.
502. Elliott, Hart LE, Cheng KM, et al. Biological effects of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*) chicks. *Environ Toxicol Chem*. 1996;15(5):782-793. doi:10.1002/etc.5620150526.
503. Kenntner N, Krone O, Altenkamp R, Tataruch F. Environmental contaminants in liver and kidney of free-ranging northern goshawks (*Accipiter gentilis*) from three regions of Germany. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2003;45(1):128-135. doi:10.1007/s00244-002-2100-8.
504. Bogan JA, Newton I. Redistribution of DDE in sparrowhawks during starvation. *Bull Environ*



- Contam Toxicol.* 1977;18(3):317-321. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/907852>. Accessed July 12, 2017.
505. Ólafsdóttir K, Petersen Æ, Magnúsdóttir E V., Björnsson T, Jóhannesson T. Temporal trends of organochlorine contamination in Black Guillemots in Iceland from 1976 to 1996. *Environ Pollut.* 2005;133(3):509-515. doi:10.1016/j.envpol.2004.06.016.
506. OMS. Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. Organización mundial de la salud. 1992.
507. Gervais J a., Anthony RG. Chronic organochlorine contaminants, environmental variability, and the demographics of a burrowing owl population. *Ecol Appl.* 2003;13(5):1250-1262. doi:10.1890/02-5202.
508. Blus LJ. Effects of pesticides on owls in North America. *J Raptor Res.* 1996;30(4):198-206.
509. Gabrielsen GW, Skaare JU, Polder A, Bakken V. Chlorinated hydrocarbons in glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) in the southern part of Svalbard. *Sci Total Environ.* 1995;160-161:337-346. doi:10.1016/0048-9697(95)04367-A.
510. Henriksen EO, Gabrielsen GW, Trudeau S, Wolkers J, Sagerup K, Skaare JU. Organochlorines and possible biochemical effects in glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) from Bjornoya, the Barents Sea. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2000;38(2):234-243. doi:10.1007/s002449910031.
511. Sharma RP, Winn DS, Low JB. Toxic, neurochemical and behavioral effects of dieldrin exposure in mallard ducks. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1977;5(1):43-53. doi:10.1007/BF02220889.
512. A. Fisher, G. R. Bortolotti, K. J. S, Bortolotti GR, Fernie KJ, et al. Courtship Behavior of Captive American Kestrels (*Falco sparverius*) Exposed to Polychlorinated Biphenyls. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2001;41(2):215-220. doi:10.1007/s002440010240.
513. Heath RG, Spann JW, Kreitzer JF. Marked DDE impairment of mallard reproduction in controlled studies. *Nature.* 1969;224(5214):47-48. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5822906>. Accessed July 12, 2017.
514. Mason CF, Ekins G, Ratford JR. PCB congeners, DDE, dieldrin and mercury in eggs from an expanding colony of cormorants (*Phalacrocorax carbo*). *Chemosphere.* 1997;34(8):1845-1849. doi:10.1016/S0045-6535(97)00019-2.
515. Wiemeyer SN, Scott JM, Anderson MP, Bloom PH, Stafford CJ. Environmental Contaminants in California Condors. *J Wildl Manage.* 1988;52(2):238. doi:10.2307/3801228.
516. Gonzalez LM, Hiraldo F. Organochlorine and heavy metal contamination in the eggs of the Spanish Imperial Eagle (*Aquila (heliaca) adalberti*) and accompanying changes in eggshell morphology and chemistry. *Environ Pollut.* 1988;51(4):241-258. doi:10.1016/0269-7491(88)90165-0.
517. Springer MA. Pesticide Analysis, Egg and Eggshell Characteristics of Red-Tailed Hawk Eggs. *Ohio J Sci.* 1980;80(5):206-210. <http://hdl.handle.net/1811/22720>.
518. Helberg M, Bustnes JO, Erikstad KE, Kristiansen KO, Skaare JU. Relationships between reproductive performance and organochlorine contaminants in great black-backed gulls (*Larus marinus*). *Environ Pollut.* 2005;134(3):475-483. doi:10.1016/j.envpol.2004.09.006.



519. Nosek JA, Craven SR, Sullivan JR, Gendron-Fitzpatrick A, Peterson RE. Embryotoxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- *p* -dioxin in the ring-necked pheasant. *Environ Toxicol Chem.* 1993;12(7):1215-1222. doi:10.1002/etc.5620120710.
520. Wiesmüller T, Sömmer P, Volland M, Schlatterer B. PCDDs/PCDFs, PCBs, and organochlorine pesticides in eggs of Eurasian sparrowhawks (*Accipiter nisus*), hobbies (*Falco subbuteo*), and northern goshawks (*Accipiter gentilis*) collected in the area of Berlin-Brandenburg, Germany. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2002;42(4):486-496. doi:10.1007/s00244-001-0045-y.
521. Bustnes JO, Bangjord G, Ahrens L, Herzke D, Yoccoz NG. Perfluoroalkyl substance concentrations in a terrestrial raptor: Relationships to environmental conditions and individual traits. *Environ Toxicol Chem.* 2015;34(1):184-191. doi:10.1002/etc.2782.
522. CSTE. *Report of the Working Group on Endocrine Disrupters of the European Union.*; 1999. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:51999DC0706&from=EN>.
523. Bulger WH, Muccitelli RM, Kupfer D. Studies on the in vivo and in vitro estrogenic activities of methoxychlor and its metabolites. Role of hepatic mono-oxygenase in methoxychlor activation. *Biochem Pharmacol.* 1978;27(20):2417-2423. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/728194>. Accessed July 12, 2017.
524. Eroschenko VP, Palmiter RD. Estrogenicity of kepone in birds and mammals. In: McLachlan JA, ed. *Estrogens in the Environment*. Vol New York: Elsevier; 1980:305-325.
525. Fry DM, Toone CK. DDT-induced feminization of gull embryos. *Science.* 1981;213(4510):922-924. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7256288>. Accessed July 12, 2017.
526. Soto AM, Lin TM, Justicia H, Silvia RM, Sonnenschein C. An "in culture" bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics (e-screen). In: Mehlman M.A, ed. *Advances in Modern Environmental Toxicology. Vol. XXI*. Vol Princeton Scientific Publishing; 1992:295-310.
527. Korach KS, Sarver P, Chae K, McLachlan JA, McKinney JD. Estrogen receptor-binding activity of polychlorinated hydroxybiphenyls: conformationally restricted structural probes. *Mol Pharmacol.* 1988;33(1):120-126. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3122017>. Accessed July 12, 2017.
528. Soontornchat S, Li M, Cooke P, Hansen L. Toxicokinetic and Toxicodynamic Influences on Endocrine Disruption by Polychlorinated Biphenyls. *Environ Health Perspect.* 1994;102(6-7):568-571. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9679117>. Accessed July 12, 2017.
529. Fry DM, Toone CK, Speich SM, Peard RJ. Sex ratio skew and breeding patterns of gulls: demographic and toxicological considerations. *Stud Avian Biol.* 1987;10:26-43. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.375.9612&rep=rep1&type=pdf#page=33>.
530. Hoyer PB. Reproductive toxicology: current and future directions. *Biochem Pharmacol.* 2001;62(12):1557-1564. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11755108>. Accessed July 12, 2017.
531. Peakall DB, Lincer JL, Risebrough RW, Pritchard JB, Kinter WB. DDE-induced egg-shell thinning: Structural and physiological effects in three species. *Comp Gen Pharmacol.* 1973;4(15):305-313. doi:10.1016/0010-4035(73)90013-X.
532. Lundholm CD. DDE-induced eggshell thinning in birds: effects of p,p'-DDE on the calcium



- and prostaglandin metabolism of the eggshell gland. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 1997;118(2):113-128. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9490182>. Accessed July 12, 2017.
533. Vos JG, Dybing E, Greim H a, et al. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation. *Crit Rev Toxicol.* 2000;30(1):71-133. doi:10.1080/10408440091159176.
534. Dieter MP. Plasma enzyme activities in Coturnix quail fed graded doses of DDE, polychlorinated phenyl, malathion and mercuric chloride. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1974;27:86-98.
535. Sonne C, Bustnes JO, Herzke D, et al. Blood plasma clinical–chemical parameters as biomarker endpoints for organohalogen contaminant exposure in Norwegian raptor nestlings. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2012;80:76-83. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.02.012.
536. Garg UK, Pal AK, Jha GJ, Jadhao SB. Haemato-biochemical and immuno-pathophysiological effects of chronic toxicity with synthetic pyrethroid, organophosphate and chlorinated pesticides in broiler chicks. *Int Immunopharmacol.* 2004;4(13):1709-1722. doi:10.1016/j.intimp.2004.08.002.
537. Geller I, Stebbins WC, Wayner MJ. Test methods for definition of effects of toxic substances on behaviour and neuromotor function. *Neurobehav Toxicol.* 1979;1(1).
538. Evangelista de Duffard AM, Duffard R. Behavioral toxicology, risk assessment, and chlorinated hydrocarbons. *Environ Health Perspect.* 1996;104 Suppl 2:353-360. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9182042>. Accessed July 12, 2017.
539. Woolley D, Zimmer L, Dodge D, Swanson K. Effects of lindane-type insecticides in mammals: unsolved problems. *Neurotoxicology.* 1985;6(2):165-192. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2410825>. Accessed July 12, 2017.
540. Narahashi T. Neurophysiological effects of insecticides. In: Krieger T, ed. *Handbook of Pesticide Toxicology: Principles.* Vol San Diego, California, USA: Academic Press; 2001:335-351. https://books.google.es/books/about/Handbook_of_Pesticide_Toxicology.html?id=OU9ZIQEACAAJ&redir_esc=y.
541. Walker CH. Neurotoxic pesticides and behavioural effects upon birds. *Ecotoxicology.* 2003;12(1-4):307-316. doi:10.1023/A:1022523331343.
542. Henshel DS. Developmental neurotoxic effects of dioxin and dioxin-like compounds on domestic and wild avian species. *Environ Toxicol Chem.* 1998;17(1):88-98. doi:10.1897/1551-5028(1998)017<0088:DNEODA>2.3.CO;2.
543. Sharma RP. Brain biogenic amines: depletion by chronic dieldrin exposure. *Life Sci.* 1973;13(9):1245-1251. doi:10.1016/0024-3205(73)90009-X.
544. Heinz GH, Hill EF, Contrera JF. Dopamine and norepinephrine depletion in ring doves fed DDE, dieldrin, and Aroclor 1254. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1980;53(1):75-82. doi:10.1016/0041-008X(80)90383-X.
545. Giesy JP, Ludwig JP, Tillitt DE. Dioxins, Dibenzofurans, PCBs and Colonial, Fish-Eating Water Birds. In: *Dioxins and Health.* Vol Boston, MA: Springer US; 1994:249-307. doi:10.1007/978-1-4899-1462-0_9.



546. Barron MG, Galbraith H, Beltman D. Comparative reproductive and developmental toxicology of PCBs in birds. *Comp Biochem Physiol - C Pharmacol Toxicol Endocrinol*. 1995;112(1):1-14. doi:10.1016/0742-8413(95)00074-7.
547. Blus LJ. DDT, DDD and DDE in birds. In: Beyer WN, Meador JP, eds. *Environmental Contaminants in Biota : Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Boca Ratón, Florida. USA.: CRC Press, Taylor & Francis; 2011:425-444.
548. Adkins-Regan E, Mansukhani V, Seiwert C, Thompson R. Sexual differentiation of brain and behavior in the zebra finch: Critical periods for effects of early estrogen treatment. *J Neurobiol*. 1994;25(7):865-877. doi:10.1002/neu.480250710.
549. Morreale de Escobar G, Jesús Obregón M, Escobar del Rey F. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism or to maternal hypothyroxinemia?. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(11):3975-3987. doi:10.1210/jcem.85.11.6961.
550. Grenfell BT, Dobson AP. *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations*. Cambridge University Press; 1995. <http://assets.cambridge.org/97805214/65021/sample/9780521465021ws.pdf>.
551. Hamilton WD (William D. *Narrow Roads of Gene Land : Vol II. Evolution of Sex*. Oxford. England: Oxford University Press;; 2001.
552. Vos VJ, Luster MI. Immune alterations. In: Kimbrough RD, Jensen AA, eds. *Halogenated Biphenyls, Terphenyls, Naphthalenes, Dibenzodioxins, and Related Products*. Vol New York: Elsevier Science; 1989:295-322.
553. Grasman KA, Fox GA, Scanlon PF, Ludwig JP. Organochlorine-associated immunosuppression in prefledgling Caspian terns and herring gulls from the Great Lakes: An ecoepidemiological study. *Environ Health Perspect*. 1996;104(Suppl. 4):829-842. doi:10.1289/ehp.96104s4829.
554. Fernie KJ, Mayne G, Shutt JL, et al. Evidence of immunomodulation in nestling American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to environmentally relevant PBDEs. *Environ Pollut*. 2005;138(3):486-494. doi:10.1016/j.envpol.2005.04.008.
555. Sagerup K, Henriksen EO, Skorping A, Skaare JU, Gabrielsen GW. Intensity of parasitic nematodes increases with organochlorine levels in the glaucous gull. *J Appl Ecol*. 2000;37(3):532-539. doi:10.1046/j.1365-2664.2000.00521.x.
556. Jones KC, de Voogt P. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ Pollut*. 1999;100(1-3):209-221. doi:10.1016/s0269-7491(99)00098-6.
557. Bustnes JO, Erikstad KE, Skaare JU, Bakken V, Mehlum F. Ecological Effects of Organochlorine Pollutants in the Arctic: A Study of the Glaucous Gull. *Ecol Appl*. 2003;13:504-515. doi:10.2307/3099914.
558. Bustnes JO, Miland O, Fjeld M, Erikstad KE, Skaare JU. Relationships between ecological variables and four organochlorine pollutants in an arctic glaucous gull (*Larus hyperboreus*) population. *Environ Pollut*. 2005;136(1):175-185. doi:10.1016/j.envpol.2004.09.026.
559. Martínez-López. E. Evaluación de la exposición a contaminantes ambientales persistentes (cadmio , plomo y compuestos organoclorados) en rapaces forestales , y uso de células sanguíneas para evaluar sus efectos. *Tesis Dr Eur Univ Murcia*. 2005:305.
560. Gómez-Ramírez P, Martínez-López E, Maria-Mojica P, et al. Organochlorine pesticides



- levels in eagle owl (*Bubo bubo*) eggs: Temporal trends and sublethal effects. *Toxicol Lett.* 2010;196:S129. doi:10.1016/j.toxlet.2010.03.451.
561. Blus LJ, Henny CJ, Hoffman DJ, Grove R a. Accumulation in and effects of lead and cadmium on waterfowl and passerines in northern Idaho. *Environ Pollut.* 1995;89(3):311-318. doi:10.1016/0269-7491(94)00069-P.
562. Risebrough RW. Effects of environmental pollutants upon animals other than man. In: *Proceedings of the Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability. Vol.6.* Vol University of California Press; 1972:443-463. <https://projecteuclid.org/euclid.bsmmsp/1200514718>.
563. Blus LJ, Lamont TG, Neely BS. Effects of organochlorine residues on eggshell thickness, reproduction, and population status of brown pelicans (*Pelecanus occidentalis*) in South Carolina and Florida, 1969--76. *Pestic Monit J.* 1979;12(4):172-184. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/461113>. Accessed July 12, 2017.
564. Blus LJ, Belisle AA, Prouty RM. Relations of the brown pelican to certain environmental pollutants. *Pestic Monit J.* 1974;7(3/4):181-194. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5221219>. Accessed July 12, 2017.
565. Gómez-Ramírez P, Martínez-López E, García-Fernández a. J, Zweers a. J, van den Brink NW. Organohalogen exposure in a Eurasian Eagle owl (*Bubo bubo*) population from Southeastern Spain: Temporal-spatial trends and risk assessment. *Chemosphere.* 2012;88(8):903-911. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.03.014.
566. Henny CJ, Bennett JK. Comparison of breaking strength and shell thickness as evaluators of white-faced ibis eggshell quality. *Environ Toxicol Chem.* 1990;9(6):797-805. doi:10.1002/etc.5620090614.
567. Clark KE, Niles LJ, Stansley W. Environmental contaminants associated with reproductive failure in bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*) eggs in New Jersey. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1998;61(2):247-254. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9702363>. Accessed July 12, 2017.
568. Schwetz BA, Norris JM, Kociba RJ, Keeler PA, Cornier RF, Gehring PJ. Reproduction study in Japanese quail fed hexachlorobutadiene for 90 days. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1974;30(2):255-265. doi:10.1016/0041-008X(74)90097-0.
569. Reed DL, Booth NH, Bush PB, Goetsch DD, Kiker J. Residues in broiler chickens fed low levels of hexachlorobenzene. *Poult Sci.* 1977;56(3):908-911. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/605063>. Accessed July 12, 2017.
570. Gilbertson M, Reynolds LM. Hexachlorobenzene (HCB) in the eggs of common terns in Hamilton Harbour, Ontario. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1972;7(6):371-373. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4131152>. Accessed July 12, 2017.
571. Henny CJ, Blus LJ, Stafford CJ. Effects of Heptachlor on American Kestrels in the Columbia Basin, Oregon. *J Wildl Manage.* 1983;47(4):1080-1087. doi:10.2307/3808167.
572. Henny CJ, Lj B, Te K. Heptachlor Seed Treatment Contaminates Hawks, Owls, and Eagles of Columbia Basin, Oregon. *Raptor Res.* 1984;18(2):41-48.
573. Konstantinou IK, Goutner V, Albanis TA. The incidence of polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide residues in the eggs of the cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*): an evaluation of the situation in four Greek wetlands of international



- importance. *Sci Total Environ.* 2000;257(1):61-79. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10943903>. Accessed July 12, 2017.
574. Mañosa S, Mateo R, Freixa C, Guitart R. Persistent organochlorine contaminants in eggs of northern goshawk and Eurasian buzzard from northeastern Spain: Temporal trends related to changes in the diet. *Environ Pollut.* 2003;122(3):351-359. doi:10.1016/S0269-7491(02)00334-2.
575. Morales L, Martrat MG, Olmos J, et al. Persistent Organic Pollutants in gull eggs of two species (*Larus michahellis* and *Larus audouinii*) from the Ebro delta Natural Park. *Chemosphere.* 2012;88(11):1306-1316. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.03.106.
576. Goutner V, Albanis T, Konstantinou I, Papakonstantinou K. PCBs and Organochlorine Pesticide Residues in Eggs of Audouin's Gull (*Larus audouinii*) in the North-Eastern Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 2001;42(5):377-388. doi:10.1016/S0025-326X(00)00165-X.
577. Pastor D, Jover L, Ruiz X, Albaiges J. Monitoring organochlorine pollution in Audouin's Gull eggs: the relevance of sampling procedures. *Sci Total Environ.* 1995;162(2-3):215-223. doi:10.1016/0048-9697(95)04466-E.
578. Fångström B, Athanasiadou M, Athanassiadis I, et al. Polybrominated diphenyl ethers and traditional organochlorine pollutants in fulmars (*Fulmarus glacialis*) from the Faroe Islands. *Chemosphere.* 2005;60(7):836-843. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.01.065.
579. Mora M a., Montoya a. B, Lee MC, et al. Persistent environmental pollutants in eggs of aplomado falcons from Northern Chihuahua, Mexico, and South Texas, USA. *Environ Int.* 2008;34(1):44-50. doi:10.1016/j.envint.2007.06.009.
580. Albanis T., Goutner V, Konstantinou I., Frigis K. Organochlorine contaminants in eggs of the yellow-legged gull (*Larus cachinnans michahellis*) in the North Eastern Mediterranean: is this gull a suitable biomonitor for the region? *Environ Pollut.* 2003;126(2):245-255. doi:10.1016/S0269-7491(03)00188-X.
581. Huertas D, Grimalt JO, Jover L, Sanpera C, Ruiz X. Organochlorine compounds in Purple Heron eggs (*Ardea purpurea*) nesting in sites located around a chlor-alkali plant (Ebro River). *Sci Total Environ.* 2015. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.037.
582. Vorkamp K, Christensen J, Riget F. Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine compounds in biota from the marine environment of East Greenland. *Sci Total Environ.* 2004;331(1-3):143-155. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.03.026.
583. Miljeteig C, Strøm H, Gavrilov M V., Volkov A, Jenssen BM, Gabrielsen GW. High levels of contaminants in ivory gull *Pagophila eburnea* eggs from the Russian and Norwegian arctic. *Environ Sci Technol.* 2009;43(14):5521-5528. doi:10.1021/es900490n.
584. Verreault J, Letcher RJ, Muir DCG, Chu S, Gebbink W a, Gabrielsen GW. New organochlorine contaminants and metabolites in plasma and eggs of glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) from the Norwegian Arctic. *Environ Toxicol Chem.* 2005;24(10):2486-2499. <http://dx.doi.org/10.1897/05-067R.1>.
585. Jörundsdóttir H, Bignert A, Svavarsson J, Nygård T, Weihe P, Bergman Å. Assessment of emerging and traditional halogenated contaminants in Guillemot (*Uria aalge*) egg from North-Western Europe and the Baltic Sea. *Sci Total Environ.* 2009;407(13):4174-4183. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.03.026.
586. Jörundsdóttir H, Norström K, Olsson M, et al. Temporal trend of bis(4-chlorophenyl)



- sulfone, methylsulfonyl-DDE and -PCBs in Baltic guillemot (*Uria aalge*) egg 1971-2001--a comparison to 4,4'-DDE and PCB trends. *Environ Pollut.* 2006;141(2):226-237. doi:10.1016/j.envpol.2005.08.054.
587. Bignert A, Danielsson S, Strandmark A, et al. *Sakrapport Metaller Och Organiska Miljögifter I Marin Biota, Trend-Och Områdesövervakning. Comments Concerning the National Swedish Contaminant Monitoring Programme in Marine Biota, 2008.*; 2008. <http://www.nrm.se/download/18.61d98c3a11a91af311a80001279/Marina+programmet+2008.pdf>. Accessed July 12, 2017.
588. Helander B, Olsson A, Bignert A, Asplund L, Litzén K. The role of DDE, PCB, coplanar PCB and eggshell parameters for reproduction in the white-tailed sea eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Sweden. *Ambio.* 2002;31(5):386-403. doi:10.1579/0044-7447-31.5.386.
589. Lincer JL, Clark RJ. Organochlorine residues in raptor eggs in the Cayuga Lake Basin (New York). *New York Fish Game J.* 1978;25:121-128. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US7922433>.
590. Mendenhall VM, Klaas EE, McLane MAR. Breeding success of barn owls (*Tyto alba*) fed low levels of DDE and dieldrin. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1983;12(2):235-240. doi:10.1007/BF01059586.
591. Klaas EE, Wiemeyer SN, Ohlendorf HM, Swineford DM. Organochlorine Residues, Eggshell Thickness, and Nest Success in Barn Owls from the Chesapeake Bay. *Estuaries.* 1978;1(1):46. doi:10.2307/1351649.
592. Yoccoz NG, Bustnes JO, Bangjord G, Skaare JU. Reproduction and survival of tawny owls in relation to persistent organic pollutants. *Environ Int.* 2009;35(1):107-112. doi:10.1016/j.envint.2008.08.014.
593. Strause KD, Zwiernik MJ, Im SH, et al. Risk assessment of great horned owls (*Bubo virginianus*) exposed to polychlorinated biphenyls and DDT along the Kalamazoo River, Michigan, USA. *Environ Toxicol Chem.* 2007;26(7):1386-1398. doi:10.1897/06-382R.1.
594. Newton I. Determination of critical pollutant levels in wild populations, examples from organochlorine insecticides in birds of prey. *Environ Pollut.* 1988;55(1):29-40. doi:10.1016/0269-7491(88)90157-1.
595. Fleming WJ, McLane MAR, Cromartie E. Endrin Decreases Screech Owl Productivity. *J Wildl Manage.* 1982;46(2):462-468. <http://www.jstor.org/stable/3808658>.
596. Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol.* 1990;21(1):51-88. doi:10.3109/10408449009089873.
597. Van Den Berg M, Birnbaum L, Bosveld ATC, et al. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect.* 1998;106(12):775-792. doi:10.1289/ehp.98106775.
598. Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, et al. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci.* 2006;93(2):223-241. doi:10.1093/toxsci/kfl055.
599. D.O.U.E. nº 323. Recomendación de la Comisión de 3 de diciembre de 2013 relativa a la reducción de los niveles de dioxinas, furanos y PCB en los piensos y los productos



- alimenticios. 2013:37-39. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013H0711&from=ES>.
600. D.O.U.E. n° 364. REGLAMENTO (CE) n° 1881/2006 DE LA COMISIÓN, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. 2006:5-24. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=ES>. Accessed August 20, 2017.
601. Hoffman DJ, Rice CP, Kubiak T. PCBs and Dioxins in birds. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, eds. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Lewis, Boca Raton, Florida: Lewis Publishers; 1996:165-209. <https://www.crcpress.com/Environmental-Contaminants-in-Wildlife-Interpreting-Tissue-Concentrations/Meador/p/book/9781566700719>. Accessed July 12, 2017.
602. Mclane MAR, Hughes DL. Reproductive success of Screech owls fed Aroclor 1248. *Arch Env Contam Toxicol*. 1980;9:661-665.
603. Anitescu G, Tavlarides LL. Oxidation of Aroclor 1248 in Supercritical Water: A Global Kinetic Study. *Ind Eng Chem Res*. 2000;39(3):583-591. doi:10.1021/ie990704l.
604. Bachour G, Failing K, Georgii S, Elmadfa I, Brunn H. Species and organ dependence of PCB contamination in fish, foxes, roe deer, and humans. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1998;35(4):666-673. doi:10.1007/s002449900429.
605. Kubistova I, Vavrova M, Literak I. Polychlorinated biphenyls in raptor and owl eggs in the Czech Republic. *Vet Med (Praha)*. 2003;48(12):363-368.
606. Henny CJ, Kaiser JL, Grove RA, Bentley VR, Elliott JE. Biomagnification Factors (Fish to Osprey Eggs from Willamette River, Oregon, U.S.A.) for PCDDs, PCDFs, PCBs and OC Pesticides. *Environ Monit Assess*. 2003;84(3):275-315. doi:10.1023/A:1023396815092.



IV. MATERIAL Y MÉTODOS





IV.1. ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO.

▪ Descripción

La Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*), recientemente incluida en el género *Ichthyaetus*, fue descrita por Payraudeau en 1826. Es un ave perteneciente al Orden de los Charadriiformes y a la familia Laridae.



Foto IV.1: Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*) adulta.

Se trata de una elegante gaviota de mediano tamaño (48-52 cm), de 120 a 138 cm de envergadura alar (¹Muntaner , 2003), de un color gris pálido en la parte superior de sus alas, y cabeza y pecho blancos. Las plumas primarias de sus alas son de color negro manchadas de blanco en sus extremos. Los adultos tienen un llamativo pico rojo cuyo extremo es negro y es rematado en la punta con una mancha amarilla. Por último, destacan sus patas oscuras que las distingue claramente de otras gaviotas con las que comparte el hábitat como la Gaviota patiamarilla (*Larus michaellis* y *L. cachinnans*), aunque también es cierto, que esta última es de mayor tamaño. Su peso oscila entre 500 y 750 g, no obstante, en esta especie existe dimorfismo sexual, siendo los machos más grandes que las hembras (²Ruiz et al., 1998; ³Genovart et al., 2003; ¹Muntaner, 2003;).

▪ Distribución

La Gaviota de Audouin es endémica del Mediterráneo, su presencia en las costas atlánticas se limita a las zonas del norte de África y suroeste de la península ibérica donde se suele verse durante el periodo invernal (imagen IV.1). Es por tanto una especie migratoria, con reproducción en las costas mediterráneas entre los meses de mayo y julio realizando una migración posteriormente, hacia los cuarteles de invierno, cruzando el estrecho de Gibraltar hacia el norte y oeste del continente africano (⁴De Juana et al., 1987). Dicho movimiento migratorio post-nupcial se realiza en los meses de julio y agosto. Tras el periodo invernal las gaviotas, principalmente las reproductoras, comienzan su



viaje de vuelta al mediterráneo llegando a sus colonias de reproducción en el mes de marzo (⁵Becares et al., 2016).

Su población ha crecido notablemente en las últimas décadas. En los años 60 se estimaba una población a nivel global de 800 a 1000 parejas (aunque estos datos pueden estar subestimados), pasando a una población actual estimada de 21.300-22.300 parejas, de las cuales más de 19.000 crían en España (⁶BirdLife International 2016).

Se distribuye como reproductora por todo el Mediterráneo (imagen IV.2), aunque podemos distinguir dos poblaciones, que como veremos en este estudio, se pueden considerar diferenciadas en cuanto a la exposición a contaminantes. Una población Oriental ubicada principalmente en las Islas Griegas y con pequeñas colonias en Croacia, Turquía, Chipre y Líbano, y otra occidental mucho más numerosa donde se concentra el 90% de la población reproductora mundial (⁷IUCN, 2017).

Esta población occidental está representada por las colonias ubicadas en España (la más numerosa), Francia, Italia, Túnez, Argelia, Marruecos y Portugal (este país contiene las únicas colonias de cría que no se encuentran en el Mediterráneo).

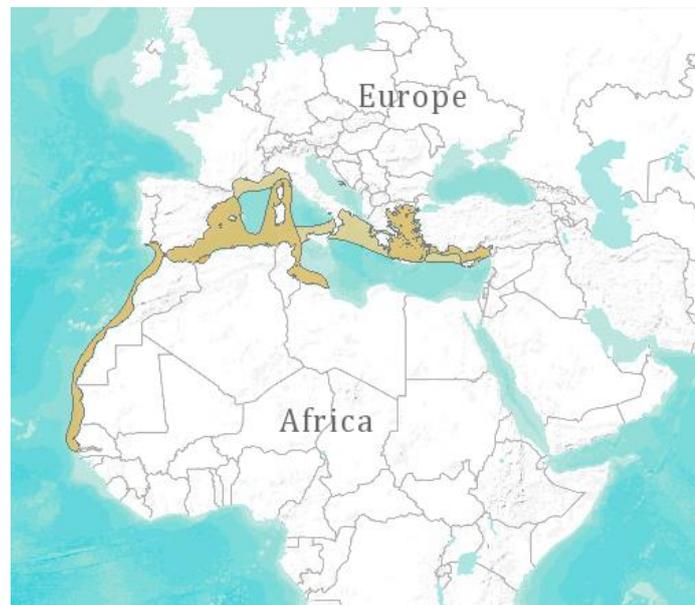


Imagen. IV.1. Área de distribución de la gaviota de Audouin a nivel global.

Fuente: ⁷IUCN (2017). *European Red list of Birds*.

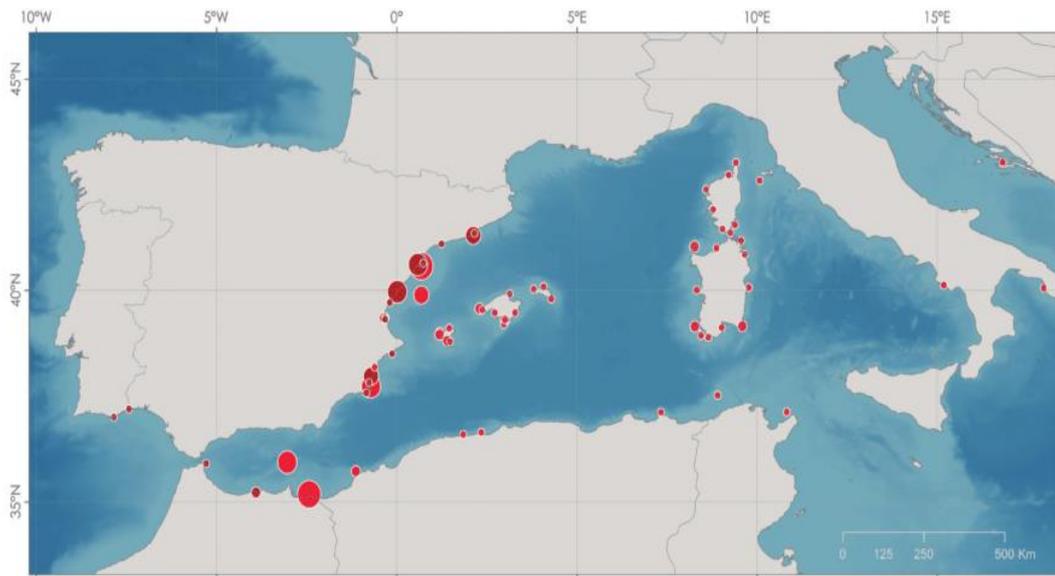


Imagen IV.2. Colonias de cría de gaviota de Audouin en el Mediterráneo occidental.

(El tamaño del círculo indica la importancia según el número de parejas).

Fuente: ⁵Becares et al., 2016.

▪ Situación en la Región de Murcia

La Gaviota de Audouin mantiene una población escasa pero estable en la Región de Murcia. Descubierta por primera vez en 1992 (Witt, 1992 en ⁸De Juana, 1994), durante un censo primaveral de aves acuáticas en la Isla Grosa realizado en 1993 se constata la presencia de al menos 153 nidos con un total aproximado de 400-500 parejas reproductoras (Guardiola et al., en ⁸De Juana, 1994). Su población llegó a superar las 1200 parejas reproductoras convirtiéndose en la tercera colonia reproductora más importante del Mediterráneo (⁹LIFE03 NAT/E/000061).

En el año 2008, el grueso de la colonia se trasladó a los alrededores de una explotación salinera en Torrevieja (Alicante), quedando una docena de parejas en Puerto Mayor (La Manga del Mar Menor)(*com. pers.*).

En la actualidad la Región de Murcia cuenta con una colonia de 300 parejas reproductoras, que representa en torno al 1,5 de la población mundial, asentada en el Parque Regional de Las Salinas y Arenales de San Pedro del Pinatar (¹⁰Benito, 2017).

▪ Ecología

La población global de la Gaviota de Audouin en el Mediterráneo debe ser entendida como una metapoblación en la que los individuos pueden ser reclutados por otras colonias diferentes a las de su nacimiento al alcanzar la madurez sexual, y donde la inmigración es el fenómeno demográfico más importante relacionado con el crecimiento de una colonia (¹¹Oró y Ruxton, 2001). Aunque otros parámetros demográficos como la



productividad tienen menor efecto sobre el sostenimiento poblacional de una colonia, aquellas con una alta productividad pueden atraer migrantes de otras colonias. En esta especie, la capacidad para cambiar de colonia dentro de la metapoblación parece ser muy alta (¹²Oró y Martínez-Vilalta, 1994).

Durante el periodo reproductor todas las gaviotas adultas se encuentran en las zonas de cría, ubicadas en las costas del mar Mediterráneo. En cambio, una proporción variable de ejemplares jóvenes permanece en las costas atlánticas africanas. La zona de invernada se prolonga desde la península Ibérica (especialmente en el tercio sur; golfo de Cádiz-Alborán), hasta las costas de Senegal y Gambia, y es especialmente importante el sur de Marruecos y Sahara Occidental (sobre todo la península de Dakhla). Durante el invierno, la proporción de jóvenes es mayor cuanto más al sur. Los adultos repiten zonas de invernada cada año, mientras que los jóvenes desplazan sus zonas de invernada hacia el norte hasta estabilizarlas una vez alcanzan la madurez (⁵Becares et al., 2016).

▪ Alimentación

Se trata de un ave eminentemente marina que se alimenta principalmente de peces pelágicos (clupeiformes), que captura en superficie asociada con otros depredadores marinos (túnididos, delfines, etc.), mediante las migraciones verticales que realizan las especies pelágicas durante la noche o asociándose a artes de pesca como el cerco o el arrastre (¹³P.03/Nat/e/000061 *Proyecto Life*; ¹⁴Ruiz et al., 1996; ⁵Becares et al., 2016). Respecto a los hábitos alimenticios, es una gaviota fundamentalmente nocturna (¹⁵Witt et al., 1981).

Además, también puede alimentarse de otras presas, sobre todo durante la época de cría, aportando un valor proteico añadido a la dieta de los pollos, existiendo diferencias entre la dieta de los parentales y de su descendencia (¹⁶Pedrocchi et al., 1996). En esta dieta incluiría cangrejo de río, aves, roedores, insectos e incluso lagomorfos (¹⁴Ruiz et al., 1996; ¹⁷Becares et al., 2015). Para aprovechar estos recursos tróficos las gaviotas de Audouin se desplazan de los nidos una media de 29 km (máximo 189,7 km), recorriendo una distancia media durante esta actividad de campeo de 81,2 km (máximo 771,4 km) (⁵Becares et al., 2016).

▪ Reproducción

Alcanza la madurez reproductora a los tres años de edad (4º año de calendario) (¹²Oró y Martínez-Vilalta, 1994; ¹⁸Oró et al., 2014). Para reproducirse utiliza islas e islotes, salinas, zonas arenosas o terrenos abandonados sin vegetación o con vegetación escasa (⁵Becares et al., 2016). El periodo reproductivo comienza a finales de abril y se puede alargar hasta



el mes de julio, con las puestas más tardías o de reposición. Su tamaño medio de puesta es de 2-3 huevos (¹⁹Oró, 1996).

Los pollos nacidos presentan dimorfismo sexual siendo los machos más grandes que las hembras (²⁰Oró, 1998). Morfológicamente son muy parecidos a los pollos de otras gaviotas con las que comparten el hábitat (*Gaviota patiamarilla*), aunque el plumaje suele ser más oscuro en los pollos de *Gaviota de Audouin*.

▪ Estatus de amenaza y estado de conservación

Con el crecimiento poblacional que ha experimentado en los últimos años el grado de amenaza a nivel global según los criterios de la UICN ha pasado de “Casi Amenazada” (NT) a “Preocupación Menor” (LC), aunque no hay que olvidar que sigue siendo una especie de ámbito geográfico reducido y con una población global relativamente pequeña, por lo que no se debe de bajar la guardia en cuanto a su vigilancia (⁵Becares et al., 2016).

Se entiende por tanto que en la actualidad la *Gaviota de Audouin* esté incluida en varios listados internacionales y nacionales:

- ✚ Anexo I de la Directiva Aves (²¹Directiva 2009/147/CE)
- ✚ Anexo II del Protocolo sobre las áreas especialmente protegidas y la diversidad biológica del Mediterráneo, en el marco del ²²Convenio de Barcelona (SPA/BD)
- ✚ Anexos I y II del Convenio de Bonn, como especie considerada “En Peligro” (protección de áreas para sus migraciones)(²³Decisión 82/461/CEE)
- ✚ Anexo III del Convenio de Berna (²⁴B.O.E. nº 235, 1986) por lo que se deberán tomarán medidas de conservación sobre su hábitat
- ✚ Catálogo Español de Especies Amenazadas considerada como “Vulnerable” (²⁵B.O.E. nº 46, 2011)
- ✚ Libro Rojo de las Aves de España también considerada como “Vulnerable” (²⁶Madroño et al., 2004).



IV.2. ÁREA DE ESTUDIO.

Las diferentes tomas de muestras para la realización de este estudio se realizaron en la colonia de reproducción de Isla Grosa (Murcia), entre los años 2000 a 2006 inclusive, en las Salinas de Torrevieja (Alicante) entre 2008 y 2011, en la Isla Moltona (Islas Baleares) en 2004 y en el Delta del Ebro 2004.

➤ ISLA GROSA

La Isla Grosa (imagen IV.3) es un cono volcánico de 17,5 hectáreas, muy escarpado que supera los 96 m de altitud sobre el nivel del mar y que se encuentra a una distancia de 2,5 km. de tierra al norte de la Manga del Mar Menor (San Javier).

Esta isla junto al Farallón, un saliente rocoso de pequeño tamaño situado al este de la misma, forma parte de los restos del vulcanismo cuaternario que acaeció en toda la zona del campo de Cartagena hace aproximadamente 7 millones de años, durante el mioceno. Están formados por rocas volcánicas de la serie calcoalcalina potásica en concreto son andesíticas piroxénicas que contienen enclaves corticales de otras rocas de diversa naturaleza formadas a gran profundidad, incluso en el manto terrestre. La isla forma un cono volcánico perfecto pero bastante erosionado. En los acantilados de la cara sur pueden observarse disyunciones columnares producidas por el enfriamiento de la lava volcánica en su ascenso a la superficie. La isla está tapizada no de forma muy abundante por diferentes especies de flora muy singulares como el cambrón (*Lycium intricatum*), oroval (*Withania frutescens*) y algunas especies nitrófilas como las salsolas. Bajo la superficie del mar se encuentra la pradera más extensa de *Posidonia oceánica* de todo el litoral murciano. Está declarada Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA) (²¹Directiva 2009/147/CEE) y fue objeto del desarrollo de un proyecto LIFE Naturaleza (Conservación de *Larus audouinii* en España. Isla Grosa. Murcia) durante los años 2004 a 2007, año en el que la colonia reproductora abandono dicho enclave (²⁷Biovisual, 2007; ⁹LIFE03 NAT/E/000061).

Esta isla se encuentra protegida dentro del espacio natural denominado “Islas e Islotes del Litoral Mediterráneo de la Región de Murcia” mediante la Ley 4/92, de 30 de julio, de Ordenación y Protección del Territorio de la Región de Murcia (²⁸B.O.E. nº 22, 1993) y cuenta con otras figuras de protección como,

- ✚ Zona Especial Protegida de Importancia para el Mediterráneo (ZEPIM) (²²Convenio de Barcelona para la protección del Mar Mediterráneo, 1975).
- ✚ Área de Protección de la Fauna Silvestre “Isla Grosa, Hormigas y de las Palomas” (²⁹Ley 7/1995, de 21 de abril, de fauna silvestre de la Región de Murcia).



- ✚ Lugar de Importancia Comunitaria (LIC) “ES6200007 Islas e Islotes del litoral Mediterráneo” (³⁰Directiva 92/43/CEE, de 21 de mayo de 1992, relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres).
- ✚ Lugar de Importancia Comunitaria (LIC) “ES6200029 Franja litoral sumergida de la Región de Murcia” (³⁰Directiva 92/43/CEE).
- ✚ Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA) “ES0000200 Isla Grosa” (Directiva 79/409/CEE derogada por la ²¹Directiva 2009/147/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de noviembre de 2009, relativa a la conservación de las aves silvestres).



Imagen IV.3. Ubicación de la colonia de nidificación de Isla Grosa hasta 2007 (en rojo).

Fuente: CARM. Elaboración Propia.

➤ **SALINAS DE TORREVIEJA**

A 27,47 km. al norte de Isla Grosa se encuentra el Parque Natural de las Lagunas de La Mata y Torrevieja (imagen IV.4). Este paraje cuenta con 3.743 hectáreas (más de la mitad de esta superficie corresponde a láminas de agua), fue declarado Parque Natural por el Gobierno valenciano el 27 de enero de 1989 (³¹D.O.G.V. nº 993, 1989), y se encuentra en la comarca de la Vega Baja del Segura, al sur de la provincia de Alicante. Dicho parque pertenece a cuatro municipios, Los Montesinos, Torrevieja, Guardamar del Segura y Rojales.

Su interior alberga dos grandes lagunas: la de Torrevieja (1400 ha) y la de La Mata (700 ha). Ambas están comunicadas por un canal artificial. También cada una de ellas está



comunicada con el mar, conformando así una única unidad de explotación salinera. Dentro del municipio de Torrevieja se encuentra la laguna más grande del parque, la laguna de Torrevieja. Al sureste de dicha laguna se ubica la empresa dedicada a la explotación salinera (NCAST S.A.). Junto a ella, en una parcela sin urbanizar, que hace las veces de escombrera, se sitúa la que en la actualidad es la segunda colonia de gaviota de Audouin más poblada del mundo (más de 3.300 parejas).



Imagen IV.4. Ubicación de la colonia reproductora de gaviota de Audouin en las Salinas de Torrevieja (en amarillo). Fuente: Google Earth. Elaboración propia.

En este Parque Natural existen distintos entornos de particular interés protegidos por la Directiva Hábitats 92/43/CEE (³⁰D.O.C.E. nº L 206, 1992):

1. Estepas salinas mediterráneas de *Limnietalia*. Se trata de zonas del litoral temporalmente encharcadas por aguas salinas y sujetas a desecación en verano. En estas zonas es frecuente encontrar plantas halófitas o crasas, conocidas en algunas zonas como almarjos, que son capaces de soportar condiciones extremas de salinidad. En las zonas más secas se observan especies del género *Limonium*.
2. Lagunas Costeras, que son medios acuáticos desde salobres a hipersalinos aislados o parcialmente comunicados con el mar. Se trata de extensiones cubiertas por una lámina de agua más o menos somera.
3. Vegetación pionera en *Salicornia*, que son formaciones compuestas principalmente o mayoritariamente por terófitos anuales en particular gramíneas y Chenopodiáceas del género *Salicornia*, pertenecientes a las asociaciones Thero-



Salicornieta, *Frankenieta pulverulenta*, *Saginetta maritima* que aparecen colonizando las llanuras de arena y limo inundadas periódicamente en los niveles inferiores de la laguna o marisma.

Este entorno cuenta con varias figuras de protección merced a su riqueza ecológica:

- ✚ Parque Natural de la Comunidad Valenciana por el Decreto 189/1988 de 12 de diciembre (³¹D.O.G.V. nº 993, 1989) y el Decreto 237/1996 de 10 de diciembre del Consell de la Generalitat Valenciana (³²D.O.G.V nº 2892, 1996).
- ✚ Incluido en el CONVENIO RAMSAR de Humedales de Importancia Internacional para las Aves (³³B.O.E. nº 110, 1990).
- ✚ Incluido en la Lista de Zonas Húmedas de Europa y el Norte de África del Proyecto Internacional Mar (1985). Incluido en la RED NATURA 2000:
 - LIC: Lugar de Importancia Comunitaria ES0000059. Directiva Hábitats (³⁰Directiva 92/43/CEE del consejo de 21 de mayo de 1992 relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y la flora silvestre).
 - ZEPA: Declarado Zona de Especial Protección para las aves, ES0000059. Directiva Aves (Directiva 79/409/CEE derogada por la ²¹Directiva 2009/147/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de noviembre de 2009, relativa a la conservación de las aves silvestres).
- ✚ Incluido en el Inventario Nacional de zonas húmedas (³⁴B.O.E. nº 71, 2011). Incluido en el Catálogo de Zonas Húmedas de la Comunidad Valenciana, aprobado por el Acuerdo del 10 de septiembre de 2002 del Gobierno Valenciano (³⁵D.O.G.V. nº 2423, 2002).

➤ DELTA DEL EBRO (Península de Banyà)

La península de la Baña (imagen IV.5), es una pequeña península situada en el extremo meridional del Delta del Ebro, Parque Natural cuya figura de protección fue declarada en 1986 (³⁶D.O.G.C. nº 799, 1986). Se extiende frente a la costa de San Carlos de la Rápita, municipio al que pertenece. La Banyà está unida al Delta del Ebro a través del Istmo del Trabucador. Todo ese conjunto delimita el espacio marítimo que se conoce como Bahía de los Alfaques y a la vez constituye el puerto natural más grande de Europa. Es una península situada en el hemidelta sur de 2.640 ha, una parte de las cuales (979 ha), se encuentran bajo explotación salinera (Salinas de La Trinidad). Tiene un relieve muy plano y suele inundarse con las subidas del nivel del mar y los temporales. Las zonas más elevadas están formadas por dunas cuya vegetación está conformada por comunidades



psamófilas. Según la Directiva 92/43 de la Unión Europea relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres (³⁰D.O.U.E. 206, 1992), este paraje está definido como dunas marítimas de las costas mediterráneas de interés comunitario: dunas móviles embrionarias; dunas fijas de litoral del *Crucianellion maritimae* y dunas con céspedes del *Malcomietalia*.

Las partes más bajas las ocupan extensas comunidades halófilas, destacando los salicorniars herbáceos y arbustivos, juncales, espartizales y crasifoliars, así como comunidades de limonium. Es especialmente interesante la presencia de la sosa de flor (*Zigophyllum álbum*). Según la Directiva 92/43 (³⁰D.O.U.E. 206, 1992), se caracterizan por poseer: vegetación anual pionera con *Salicornia* y otras especies de zonas fangosas o arenosas; pastizales de *Spartina* (*Spartinion maritimae*); pastizales salinos mediterráneos (*Juncetalia maritimi*); matorrales halófilos mediterráneos y termoatlánticos (*Sarcocornetea fruticosi*); estepas salinas mediterráneas (*Limonietalia*) y llanos fangosos o arenosos que no están cubiertos de agua cuando hay marea baja. Bajo la superficie del agua existe una gran pradera de *Cymodocea nodosa* (95 ha).

Esta zona forma parte del espacio del PEIN "Delta del Ebro", del Parque Natural y del espacio de la Red Natura 2000 "Delta del Ebro" (³⁷Bota *et al.*, 2014). Asimismo, toda la punta del Cuerno es Reserva natural parcial desde el año 1986. En la actualidad, el 60% de la población mundial se reproduce en esta zona (más de 12.000 parejas).

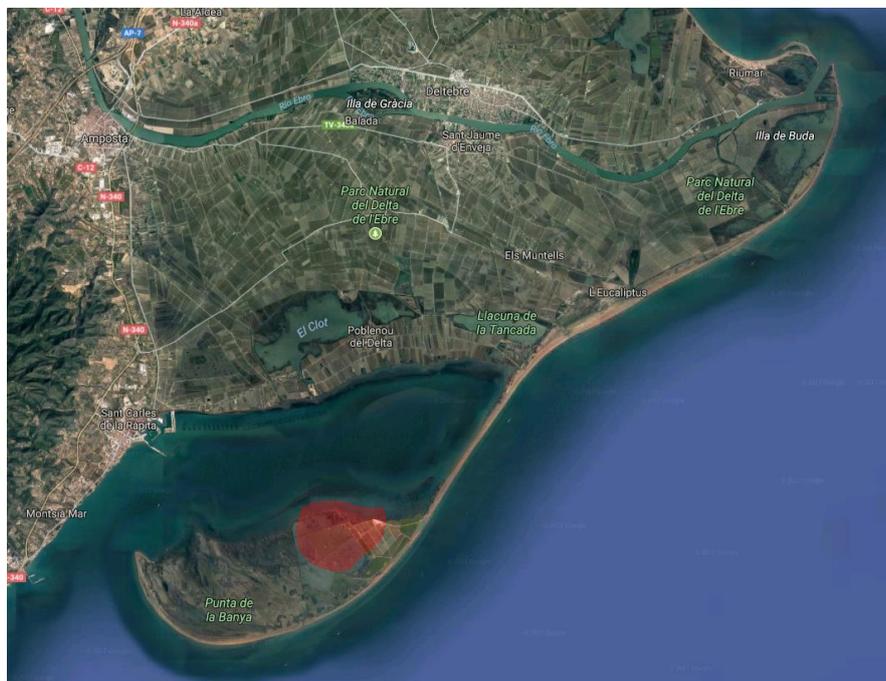


Imagen IV.5. Localización de la colonia de gaviota de Audouin en la península de Banyà (en rojo).

Fuente: <https://www.google.es/maps>. Elaboración propia.



➤ ISLA NA MOLTONA (SES SALINES)

La Isla Na Moltona (imagen IV.6), es un islote de 6 ha y 9 m de altura máxima, situado a 300 m de la costa sur de Mallorca y poca distancia de los islotes de Na Guardis y de Na Pelada (39°18'N 3°00'E). Es el mayor de este grupo de islotes y, al igual que los demás islotes del sur, está a poca distancia del archipiélago de Cabrera.

Es muy llano o con pendientes muy suaves y tiene un recubrimiento vegetal muy variado, con matorral mediterráneo en la zona central y norte, menos expuestas al mar, y con un cinturón de vegetación halófila en la parte externa.

Está incluida en un Área Natural de Especial Interés y es ZEPA y LIC (³⁸B.O.E. nº 103, 1991), pero carece, como el resto de los islotes, de vigilancia, lo cual crea un problema de conservación por ser una zona muy frecuentada, especialmente a final de la primavera y en verano (¹Muntaner, 2003).



Imagen IV.6. Isla Moltona. Situación de la Isla en Mallorca. Fuente del mapa: ³⁹McMinn y Rodriguez, 2010.

IV.3. ESTUDIOS PRELIMINARES.

Durante el tiempo que duró la captura y muestreo de los pollos de Isla Grosa el 14 de junio del año 2001 (entre las 9:20 y las 11:10 horas), se realizó la toma de su temperatura corporal. Para ello, se seleccionaron un total de 37 pollos a los que se les fue tomando la temperatura conforme se iban liberando. Según los registros de la estación meteorológica ICAO/OACI (LELC): 84330, la temperatura mínima el día de la realización del estudio fue de 18°C con una temperatura media de 25,6°C y temperatura máxima de 31°C. La humedad relativa del aire fue del 62%.

Para la captura de los animales, los anilladores se acercaban a los nidos cogiendo los ejemplares de cada pollada e introduciéndolos en una caja de cartón mientras se les medía, pesaba y anillaba. Posteriormente el equipo de extracción de muestras cogía al azar un pollo de cada pollada para evitar pseudoreplicaciones en los datos.



Mientras el pollo de gaviota era sujetado por un ayudante, el veterinario realizaba la toma de muestras (sangre, torundas cloacales y plumas). Con posterioridad, se devolvía a su nido con sus hermanos y pasados entre 10 y 20 segundos, se procedía a tomar la temperatura en la membrana interdigital de dicho animal utilizando un termómetro de infrarrojos (IRT-infrared termography) (Raytec® Raynger ST. USA), a la menor distancia posible sin asustar a los animales.

IV.4. METODOLOGÍA DE RECOGIDA DE MUESTRAS Y CONSERVACIÓN.

➤ SANGRE DE POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN

La recolección de muestras de sangre de pollos de gaviota de Audouin se realizó en periodo 2002-2006, en la colonia de reproducción de la Isla Grosa en la Región de Murcia y en los años 2008-2011 en las Salinas de Torrevieja, al haberse trasladado hasta aquí la práctica totalidad de las parejas reproductoras en Isla Grosa. La totalidad de las muestras recolectadas, así como los años correspondientes de muestreo, están recogidos en la tabla IV.1.

Tabla IV.1. Muestras utilizadas en la presente memoria

AÑO	Nº DE MUESTRAS	NATURALEZA DE LA MUESTRA	PROCEDENCIA
2000	5	Huevo	Isla Grosa
2001	5	Huevo	Isla Grosa
2002	29 6 1	SANGRE POLLO PLUMA ADULTO PLUMA POLLO	ISLA GROSA
2003	44 4 2 11	SANGRE POLLO PLUMA ADULTO PLUMA POLLO HUEVO	ISLA GROSA
2004	40 8 10 12 9	SANGRE POLLO PLUMA ADULTO PLUMA ADULTO PLUMA POLLO HUEVO	ISLA GROSA ISLA GROSA DELTA EBRO DELTA EBRO ISLA MOLTONA
2005	34	SANGRE POLLO	ISLA GROSA
2006	21	SANGRE POLLO	ISLA GROSA
2008	24	SANGRE POLLO	TORREVIEJA
2009	30	SANGRE POLLO	TORREVIEJA
2010	30	SANGRE POLLO	TORREVIEJA
2011	29 6 61	SANGRE POLLO PLUMA POLLO PLUMA POLLO	TORREVIEJA



En 2007 no se pudo tomar muestras ya que los técnicos de la Dirección General del Medio Natural de la extinta Consejería de Industria y Medio Ambiente, a pesar de contar con autorización para ello, no permitió el acceso a la colonia a nuestro grupo de investigación hasta que los pollos ya eran demasiado grandes para su captura.

El manejo de los pollos se realizó aprovechando las campañas de anillamiento científico en cada una de las colonias mencionadas. Los anilladores en primera instancia capturaban a los pollos los anillaban, median y pesaban para posteriormente introducirlos en una caja de cartón para que no escaparan minimizar el estrés por manejo (foto IV.2). El equipo de extracción de muestras que acompañaba a cada equipo de anilladores procedía a escoger al azar un pollo, de aproximadamente 25 días de edad, de cada pollada para evitar pseudoreplicaciones en los datos.



Foto IV.2. Pollo seleccionado para la extracción sanguínea.

Mientras un ayudante mantenía al animal en decúbito supino, un veterinario procedía a realizar la extracción de sangre. La muestra de sangre extraída no podía suponer nunca más del 1% del peso del animal. Teniendo en cuenta que el peso de los pollos muestreados osciló de 331 a 401 gramos, se estimó extraer una cantidad de 3 ml de sangre a cada pollo.



Foto IV.3. Imagen en la que se ve a un equipo de trabajo durante el anillamiento y la extracción de muestras en Isla Grosa.



La sangre fue extraída mediante punción de la vena ulnar o braquial del ala de los pollos mediante jeringuilla de 2,5 ml, heparinizada en ese mismo momento con heparina de litio y utilizando aguja de 0,5x16mm (25G) o de 0,6x25mm (23G), dependiendo del tamaño del pollo (foto IV.4.a). Posteriormente la sangre fue dispensada en un tubo Eppendorf® (foto IV.4.b) y mantenida en refrigeración hasta su llegada al laboratorio a las pocas horas. Una vez en el laboratorio del Grupo de Investigación de Toxicología de la Universidad de Murcia, las muestras fueron conservadas en congelación a -80°C hasta su análisis.

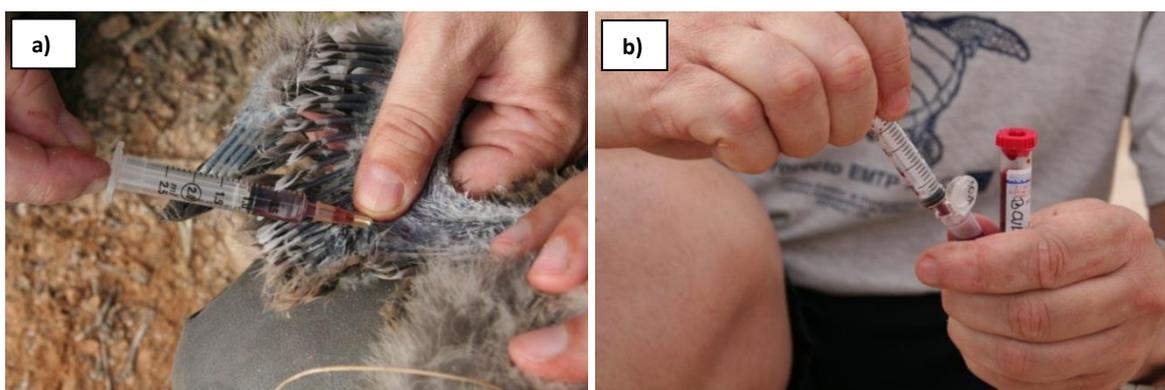


Foto IV.4. a) Proceso de extracción de la muestra de sangre. Torrevieja. b) Dispensando la sangre en los tubos Eppendorf® para análisis de contaminantes y en tubos especiales para bioquímica.

Las muestras recogidas fueron empleadas para el análisis toxicológico de metales pesados (Cd, Pb, Cu, Zn y Hg), así como para sexado y bioquímica sanguínea, este último no objeto de esta tesis doctoral.

➤ MUESTRAS DE PLUMAS DE POLLOS Y ADULTOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN

Las muestras procedentes de Isla Grosa, Delta del Ebro y Torrevieja se obtuvieron en diferentes años. Así las muestras recogidas en Isla Grosa se corresponden con los años 2002-2004; las recogidas en el Delta del Ebro se corresponden con el año 2004 y las recogidas en Torrevieja se corresponden con el año 2011 (tabla IV.1). La colonia del Delta del Ebro fue utilizada como control.

Una vez extraída la muestra de sangre a los pollos de gaviota y previamente a ser liberados se procedía a recolectar varias plumas de la zona interescapular extrayéndolas directamente del folículo ejerciendo una leve tracción (foto IV.5). La elección de esta pluma se debe a que se ha comprobado como las plumas interescapulares presentan menos variabilidad en cuanto a las concentraciones de metales pesados, como el mercurio, que otras plumas (¹⁹Furness et al., 1986). Se seleccionaban aquellas que habían alcanzado su total desarrollo y por lo tanto ya no recibían aporte sanguíneo.



Foto IV.5. Toma de muestras de plumas interescapulares en pollos de gaviota.

En el caso de los adultos se recogieron plumas de los cadáveres encontrados en la colonia que habían fallecido tras quedar inmovilizados por atrapamiento con artes de pesca (anzuelos, sedales, etc.) (fotos IV.6 y IV.7).



Foto IV.6. Extrayendo un anzuelo (potera) de la pata de un adulto reproductor, una de las causas principales de muerte detectadas en los cadáveres encontrados en las colonias prospectadas.

Para ello se seleccionaron plumas primarias del ala, las cuales fueron extraídas por tracción para conservar toda la estructura de la pluma. Posteriormente a su extracción, las plumas fueron introducidas en bolsas de plástico, las cuales en el caso de los pollos se rotularon con el número de su anilla y en los adultos se les asignó un código correlativo. Una vez debidamente precintadas las bolsas estas fueron trasladadas al laboratorio de Toxicología y mantenidas a temperatura ambiente, en lugar fresco y seco (en oscuridad) hasta su análisis.



Foto IV.7. Cadáveres de adultos atrapados con artes de pesca en las cercanías del nido (Isla Grosa).



Las plumas recogidas fueron empleadas para análisis toxicológico de metales pesados (Cd, Pb, Cu, Zn y Hg).

Por tratarse de aves coloniales no se pudo establecer relación de parentesco entre las plumas de pollos y de adultos.

➤ MUESTRAS DE HUEVOS

Los huevos que se han utilizado para esta investigación han sido recolectados en Isla Grosa en los años 2000, 2001 y 2003 aprovechando las campañas de anillamiento científico. Como control se utilizaron huevos recolectados en la Isla Moltona en 2004 (tabla IV.1).

Los huevos fueron recolectándose de nidos que presentaban fallos reproductivos y habían sido abandonados (foto IV.8). Para comprobar si los huevos estaban siendo incubados se les tomaba la temperatura y si esta estaba cercana a la temperatura ambiental se consideraba que los padres habían abandonado la puesta.

Se recolectó un huevo de cada nido para evitar pseudoreplicaciones en los resultados.



Foto IV.8. Huevo abandonado de gaviota de Audouin en Isla Grosa.

Para ello un miembro del equipo de anillamiento y toma de muestras recogía cada uno de los huevos seleccionados los cuales eran introducidos en una duquesita. Este se mantenía en refrigeración hasta su llegada al laboratorio. Una vez allí fueron mantenidas en congelación (-40°C) hasta su procesado.

Las muestras obtenidas fueron destinadas a tres tipos de análisis. Por un lado los huevos completos fueron sometidos a estudios biométricos (peso, volumen, longitud, anchura, grosor de cáscara, etc.), posteriormente fueron abiertos para extraer su contenido y en ese momento estudiar el grado de desarrollo embrionario. Los contenidos de los huevos que carecían de desarrollo embrionario, o este no había llegado al 5º día, eran homogeneizados y congelados a -80°C hasta su análisis. Dichos contenidos fueron



destinados posteriormente a análisis de OC y PCB's. Las cáscaras de todos los huevos recolectados fueron destinadas a análisis toxicológicos de metales pesados (Cd, Pb, Cu y Zn), en el momento de su descongelación (foto IV.9).



Foto IV.9. Huevos en descongelación para su posterior procesado.

IV.5. DETERMINACIÓN DEL SEXO DE LOS POLLOS.

Para este estudio, en los laboratorios del Departamento de Zoología y Antropología Física de la Universidad de Murcia bajo la dirección del Dr. José Galián Albaladejo, se analizaron un total de 147 muestras de sangre de pollos de aproximadamente 25 días de edad capturados en la colonia de Isla Grosa durante las campañas de anillamiento de 2002 a 2005. Los resultados de las muestras de 2004 no fueron determinantes, al no poder interpretarse con claridad los resultados revelados tras la electroforesis, por lo que se optó por estudiar los datos obtenidos de los otros tres años (95 muestras).

Para la realización del estudio se empleó la técnica de amplificación de los fragmentos de los genes CHD1 mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Para su realización, previamente, 5 μ l de sangre de pollo de gaviota fue digerida con 100 μ l de NaOH durante 10 minutos a 95 grados en termociclador Ependorf.

Para la realización de la PCR, 0,5 μ l del DNA obtenido fue añadido a una dilución 100 nM de los Primers P2 (5'-TCTGCATCGCTAAATCCTTT-3') y P8 (5'-CTCCCAAGGATGATRAAYTG-3') (⁴⁰Griffiths et al, 1998) a razón de 0,3 μ l de cada primer hasta completar un volumen total de 12,5 μ l tras añadir una mezcla de Buffer (Tampón 10X); MgCl₂ 50mM; dNTP 50mM; Ecotaq (DNA polimerasa); Agua purificada.

La reacción de PCR se realizó en Termociclador PTC-10 (MJ Research, Waltham, MA, USA) siguiendo al secuencia 2 minutos a 96°C; 30 segundos a 96°C; 30 segundos a 50°C; 1 minuto a 72°C, repitiendo desde el paso dos de la secuencia 35 veces más.



Posteriormente se sometió durante 10 minutos a 72°C y se finalizó el proceso manteniéndolo a 15°C.

Para la electroforesis se tomaron 6 µl de la PCR obtenida y tras ser mezclada con una cantidad igual de Azul de Bromofenol se analizó por electroforesis en Gel NuSieve® GTC Agarosa al 6% al que se la añadió Bromuro de Etidio en su preparación. El producto fue visualizado y fotografiado bajo luz ultravioleta. Para su interpretación, se tuvo en consideración que la banda del gen CHD1-Z de 340 pb (pares de bases) aparece en ambos sexos, mientras las hembras tienen una segunda banda CHD1-W de 370 pb (imagen IV.7).

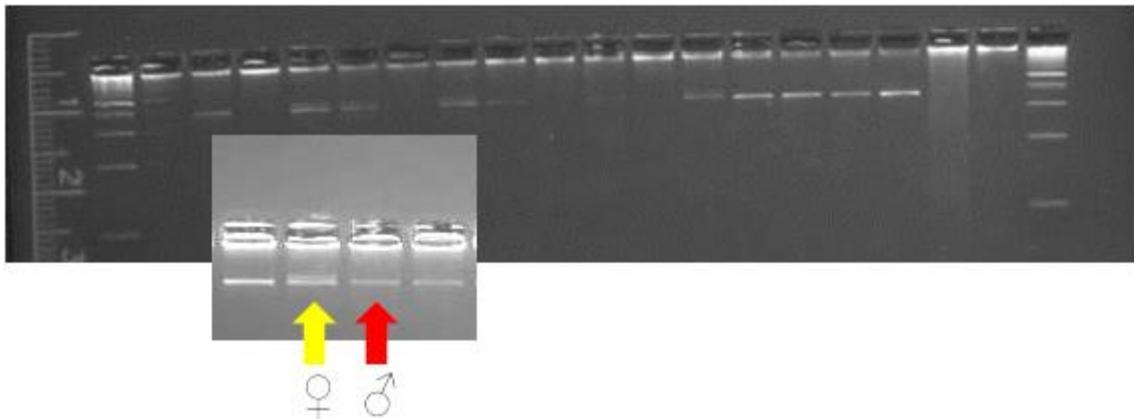


Imagen IV.7. Electroforesis en la que se observan señalados con flechas ejemplares machos (gen CHD1-Z) y hembras (gen CHD1-Z y gen CHD1-W).

IV.6. ANÁLISIS DE METALES PESADOS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS.

Los niveles de cadmio, plomo, cobre, zinc y mercurio en sangre se determinaron en un total de 281 muestras obtenidas en pollos de Gaviota de Audouin nacidos entre 2002 y 2011. Del mismo modo se determinaron dichos metales en un total de 110 muestras de pluma de adultos y pollos de gaviota en los años 2002, 2003, 2004 y 2011.

Por otro lado se determinaron las concentraciones de metales pesados (Cd, Pb, Cu y Zn) en 30 huevos colectados en los años 2000, 2001, 2003 y 2004.

IV.6.1. TÉCNICA ANALÍTICA.

En el presente trabajo se ha utilizado la metodología descrita por ⁴¹García-Fernández *et al.* (1995), que emplea la voltamperometría de redisolución anódica de pulsos diferencial (DPASV) para la determinación de los metales cadmio, plomo, cobre y zinc. A pesar de que la determinación de metales como el plomo y el cadmio se realiza normalmente por métodos de absorción atómica, ⁴²Oehme y Lund (1979), sostienen que DPA es un método que puede competir, como método de rutina en laboratorios, en sensibilidad y coste por



análisis con la absorción atómica y, además, tiene la ventaja de poder determinar varios metales simultáneamente.

Para la determinación de mercurio se utilizó la espectrofotometría de absorción atómica mediante el uso de un analizador directo de mercurio Milestone DMA-80 (⁴³Espín et al, 2012).

➤ VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA

▪ Soluciones patrón y concentraciones

A partir de un patrón madre de calidad y riqueza contrastadas (Sigma[®]), de cada uno de los metales que iban a ser analizados (Cd, Pb, Cu y Zn) se prepararon diferentes disoluciones con concentraciones decrecientes de cada metal utilizando como disolvente agua ultrapurificada (Milli-Q).

Para la adición de los patrones se utilizaron micropipetas Biohit Proline[®] y puntas de micropipeta desechables libres de metales.

Tabla IV.2. Disoluciones patrón utilizadas en el análisis voltamétrico

Metal	Concentración madre (Sigma [®])	Concentración 1/10	Concentración 1/100	Concentración 1/1000
CADMIO	1025 µg/ml	102,5 µg/ml	10,25 µg/ml	1,025 µg/ml
COBRE	1000 µg/ml	100,0 µg/ml	10,00 µg/ml	1,000 µg/ml
PLOMO	1050 µg/ml	105,0 µg/ml	10,50 µg/ml	1,050 µg/ml
ZINC	1050 µg/ml	105,0 µg/ml	10,50 µg/ml	1,050 µg/ml

Para estabilizar las disoluciones y asegurar la suspensión del metal, evitando su precipitación, cada disolución fue acidificada con HCl 30% para cadmio, cobre y zinc, y con HNO₃ 65% para plomo.

▪ Equipo utilizado y condiciones de operación

Se utilizó un polarógrafo Metrohm[®] (foto IV.10), formado por un puesto de trabajo VA-757 y un ordenador con el software adecuado para procesar los datos. El puesto de trabajo consiste en una célula electrolítica, donde se deposita la muestra, y los siguientes electrodos:

- Electrodo de trabajo: electrodo de mercurio multimodo (MME).
- Electrodo de referencia Ag/AgCl, KCL 3 mol/l.
- Electrodo auxiliar de platino.



Foto IV.10. Polarógrafo Metrohm®.

Antes de la realización del análisis cuantitativo, se realiza un análisis cualitativo, llamado análisis exploratorio, el cual permite tener una referencia de los niveles de metales presentes en la muestra. De esta forma se puede determinar tanto la concentración como el volumen de las disoluciones de patrón a utilizar para la determinación cuantitativa. La medida de intensidad de corriente del patrón que se añadirá a cada muestra digerida debe ser de 1,5 a 3 veces superior a la intensidad de corriente encontrada en la muestra, durante el análisis exploratorio, para cada uno de los metales. Las condiciones de trabajo se detallan en la siguiente tabla:

Tabla IV.3. Condiciones de trabajo para el análisis de cadmio, plomo, cobre y zinc por voltamperometría de redisolución anódica.

Técnica	Gota pendiente de mercurio (HMDE)
Modo de medición	Diferencial de pulsos normal (DP)
Purga de N₂ inicial	5 minutos
Tiempo de electrolisis	120 s (Cd, Pb, Cu) 30 s Zn
Tiempo de reposo tras electrolisis	10 s
Potencial inicial de medición	-800 mV (Cd, Pb y Cu) -1200 mV (Zn)
Potencial final de medición	65 mV (Cd, Pb y Cu) -800 mV (Zn)
Tiempo de impulso	0,04 s
Amplitud de impulsos	50 mV
Velocidad de barrido	15 mV/s
Incremento de potencial	6 mV
Tiempo de repetición de impulsos	0,6 s
Electrolito soporte	50µl HCL



▪ Identificación y cuantificación. Límites de detección

Con los patrones y condiciones de trabajo descritas anteriormente, se identificaron los metales objeto de este estudio encontrándose los valores mostrados en la siguiente tabla:

Tabla IV.4. Rango de potencial de verificación para los diferentes metales

METAL	Potencial de verificación
Zinc	-990±20mV
Cadmio	-585±20mV
Plomo	-380±20mV
Cobre	-80±40mV

De esta forma, programando el barrido en el intervalo de potencial que va desde -1200 a +60 mV y utilizando las condiciones descritas con anterioridad, sólo se pueden detectar los cuatro metales pesados anteriormente citados.

La cuantificación de los niveles de metales pesados en la muestra se determina tras la adición de volúmenes constantes de cada una de las disoluciones patrón mediante regresión lineal.

Los límites de detección para cada metal se calcularon bajo la premisa de que la altura de un pico fuera como mínimo el triple del valor encontrado para una muestra blanco purificada y digerida de la misma forma que las muestras problema. Para su establecimiento, se analizaron disoluciones patrón de concentraciones decrecientes hasta obtener respuestas inferiores a los valores mínimos según el método descrito por ⁴⁴Martínez-López (2005). De esta forma los límites de detección encontrados se muestran en la tabla IV.5.

Tabla IV.5. Límites de detección

METAL	Límite de detección
Zinc	0,3 mg/L
Cadmio	0,025 µg/L
Plomo	1,22 µg/L
Cobre	0,04 mg/L



IV.6.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA.

▪ Acondicionamiento de las muestras para el análisis voltamétrico

Según ⁴²Oehme y Lund (1979), la muestra que se introduzca en la célula electrolítica para su análisis debe estar exenta de impurezas orgánicas para no interferir en la determinación por DPASV. Es necesario, por tanto, que la matriz biológica objeto de estudio sufra una digestión completa. Con este fin, se utilizó una digestión húmeda de las muestras (⁴¹García-Fernández et al., 1995). El método consiste en una digestión a altas temperaturas de la muestra con una mezcla de ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico en una proporción 8/8/1 en el caso de las muestras de sangre. Las muestras de plumas y cáscaras de huevo sufren una predigestión previa, con una proporción de 8/4/1 de los ácidos, según el método descrito por ⁴⁵Martínez-López et al (2004).

▪ Reactivos utilizados

Para minimizar el riesgo de contaminación de la muestra durante su acondicionamiento y digestión se utilizaron reactivos de calidad idónea y material fungible sometido a un lavado que garantizase niveles mínimos de metales. Así, todos los reactivos utilizados en el proceso fueron de calidad Suprapur[®] (Merk, Darmstadt, Alemania) y utilizados en las disoluciones originarias de fabricación HNO₃ 65%, HSO₄ 96%, HCl 30%, HClO₄ 70%. Para la dilución del extracto procedente de la digestión se utilizó agua destilada y purificada en un sistema Milli-Q[®] adicionada de HCl como se explica posteriormente.

Los patrones de adición se prepararon mediante diluciones a partir de soluciones estándar de cadmio, plomo, cobre y zinc de Sigma[®] y agua purificada (Milli-Q[®]).

▪ Instrumentación y Material

Los tubos de cuarzo, de 10 x 100 mm y un volumen aproximado de 5ml, empleados en la digestión húmeda fueron lavados previamente con agua y jabón, sumergidos en una solución de ácido sulfúrico y aclarados con agua destilada para lavarlos con una solución de HNO₃ al 2% durante, al menos, 24 horas. Posteriormente, fueron aclarados dos veces con agua bidestilada y secados en estufa a 80°C.

Para llevar a cabo la digestión se utilizó un digestor Selecta[®] con termostato y control de temperatura de 10 a 450 °C, equipado con un bloque de aluminio con capacidad para 60 tubos de 10 mm de diámetro. El digestor está colocado en el interior de una cabina extractora de humos Captair 5008 UN (foto IV.11).



Foto IV.11. Puesto de digestión. Cabina extractora de humos y bloque digestor.

Para minimizar la contaminación y pérdida de analitos, todas las muestras fueron pre-digeridas directamente en los tubos de cuarzo con la solución ácida anteriormente mencionada.

▪ Procedimiento de digestión

a) MUESTRAS DE SANGRE TOTAL

A 200 μ l de sangre dispuesta en un tubo de cuarzo se le añaden 0,5 ml de la mezcla de ácidos (nitríco, perclórico y sulfúrico, 8:8:1). La muestra así preparada es sometida, en el digestor, al siguiente tratamiento térmico, pudiéndose aumentar los tiempos según las características de cada muestra (tabla IV.6).

Tabla IV.6. Tratamiento térmico para la digestión ácida

TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (Minutos)
40	15
60	20
80	10
100	10
110	20
120	10
130	10
160	10
190	120
250	5
300	5
340	5
380	HASTA SEQUEDAD

**b) MUESTRAS DE PLUMAS****b.1) Lavado de las plumas**

Las plumas se sometieron a un lavado con acetona para eliminar la grasa y posteriormente un lavado con tritón X- 100 diluido en una proporción de 1:400. Una vez hecho esto, se lavaron con una solución de HNO₃ al 5%. Tras el proceso de lavado, las plumas fueron cortadas y desecadas en estufa a 80°C durante al menos 12 horas.

b.2) Predigestión de las plumas

Las plumas fueron cortadas en trozos de muy pequeño tamaño y todos los trozos fueron homogeneizados. 0,1 g de dicho homogeneizado de cada pluma en el caso de las aves adultas o de varias plumas en el caso de los pollos, fue introducido en un tubo de cuarzo al que se le añadió 1 ml de la mezcla de ácidos (nitríco, perclórico y sulfúrico, 8:4:1). Las muestras se mantuvieron 24 horas en predigestión dentro de la cabina extractora, cerrada, para evitar contaminaciones.

b.3) Digestión de las plumas

Posteriormente al proceso de predigestión, las muestras fueron sometidas a un tratamiento térmico en el digestor, con un protocolo de temperatura idéntico al empleado para las muestras de sangre.

c) MUESTRAS DE CÁSCARA DE HUEVO**c.1) Lavado de las cáscaras de huevo**

Una vez abiertos los huevos y separado su contenido, las cáscaras se sometieron a un lavado con acetona y posteriormente un lavado con tritón X- 100 diluido en una proporción de 1:400. Una vez hecho esto se lavaron con una solución de HNO₃ al 5%.

c.2) Predigestión de las cáscaras

Se tomaron pequeños trozos de la cáscara en varios puntos del ecuador de cada huevo. 0,1 g de cáscara de cada huevo fue introducido en un tubo de cuarzo al que se le añadió 1 ml. de la mezcla de ácidos (nitríco, perclórico y sulfúrico, 8/4/1). Las muestras se mantuvieron 24 horas en predigestión dentro de la cabina extractora, cerrada, para evitar contaminaciones.

c.3) Digestión de las cáscaras

Posteriormente al proceso de predigestión, las muestras fueron sometidas a un tratamiento térmico en el digestor, con un protocolo de temperatura idéntico al empleado para las muestras de sangre.



IV.6.3. ANÁLISIS DE METALES PESADOS.

Tras llevar la muestra a sequedad se deja enfriar y se añaden 50µl de ácido clorhídrico como electrolito de soporte. Finalmente, se redisuelve con agua destilada y purificada en milli-Q® (5+5 ml en dos fases) y se pasa por un baño ultrasónico. Posteriormente se trasvasa a la célula electrolítica (volumen total 10 ml). El pH de la disolución final a analizar debe estar entre 1 y 2.

La concentración de metales en las muestras digeridas se calculó mediante dos adiciones de patrón (Sigma, St. Louis, MO) por análisis en un volumen constante. La repetibilidad y reproducibilidad se calcularon procesando 10 muestras idénticas de sangre liofilizada reconstituida (European Union Reference Standards) CRM195 y alcanzaron 96,5±1,2% y 98,16±1,03% respectivamente (⁴¹García- Fernández *et al.*, 1995).

➤ ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

El mercurio total se analizó en un analizador directo de mercurio DMA-80 de Milestone mediante espectrofotometría de absorción atómica con un límite de detección de 0,005 ng.

Las muestras de sangre (100 µl peso húmedo) o de plumas ya limpias y troceadas según el método descrito en el apartado anterior (0,1 g de peso seco), se cargaron en una navicilla de níquel y se analizaron. La curva de calibración se calculó con once puntos (por duplicado), de 0 a 1004 ng de mercurio.

La precisión y la exactitud del método fueron probadas utilizando materiales de referencia certificados (Mercury Standard para AAS, Fluka, 1000 mg / L Hg en ácido nítrico al 12%, preparados con Hg metal de alta pureza, HNO₃TraceSELECT® y agua TraceSELECT® Ultra). La recuperación del mercurio total de siete repeticiones de CRM diluido a 1 ppm fue de 98.14 ± 3.52% (media ± desviación estándar). El coeficiente de variación para la repetibilidad fue del 3,58%.

Las concentraciones de mercurio fueron expresadas en peso seco.

IV.7. ANÁLISIS DE COMPUESTOS ORGANOCOLORADOS Y CONGENERES DE PCB's EN MUESTRAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

IV.7.1. TÉCNICA ANALÍTICA.

Las muestras de huevos no eclosionados se procesaron en los laboratorios del Centro de Ecología e Hidrología de Monks Wood (Reino Unido), bajo la supervisión del Dr. Richard



Shore y con la colaboración de la Dra. Emma Martínez López, donde se analizaron compuestos organoclorados y PCB's siguiendo la metodología descrita por ⁴⁶Newton *et al.* (1999) y ⁴⁷Wienburg y Shore (2004).

▪ **Reactivos**

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad para análisis de residuos: acetona (Rathburn ®), n-hexano 99% (Rathburn ®), sulfato sódico anhidro (BDH ®), arena lavada con ácidos (BDH®) y óxido de alúmina desactivado, neutro, brockman grado 1 (BDH ®).

▪ **Preparación del material**

Previamente a su utilización a su uso, el material de vidrio utilizado (probetas, vasos de precipitado, pipetas Pasteur, matraces, etc.) fueron lavados 5 veces con una mezcla hexano:acetona (1:1). La alúmina, el sulfato de sodio anhidro y la arena de homogenización fueron tratadas siguiendo los métodos descritos a continuación:

Oxido de aluminio (Alúmina) (BDH): Primeramente se sometió a un tratamiento térmico a 800°C durante 4 horas en un horno mufla. A continuación, se dejó enfriar durante 12 horas y se le añadió 5% de agua desionizada. Finalmente, se mantuvo en agitación constante durante 60 minutos.

Arena y Sulfato de sodio anhidro (BDH): Se sometió a tratamiento térmico en horno mufla durante 4 horas a una temperatura de 700°C. A continuación, se dejó enfriar durante al menos 12 horas y el sulfato se trituró hasta pulverización.

IV.7.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA.

▪ **Preparación de las muestras**

Se tomaron diversas medidas biométricas de cada huevo (longitud y la anchura) con un calibrador digital con un error de 0.01 mm. Los huevos fueron abiertos y el contenido fue pesado y guardado a temperatura de congelación (-80°C) hasta el momento del análisis. Después de la descongelación, el contenido de los huevos fue homogeneizado tomando una pequeña muestra (2g) para la determinación de organoclorados. Las cáscaras se dejaron secar hasta obtener un peso constante (más de 30 días) y posteriormente se pesaron. El índice de cáscara se obtuvo mediante la fórmula (⁴⁸Ratcliffe, 1970):

$$\text{Índice de cáscara} \left(\frac{mg}{mm^2} \right) = \frac{\text{Peso de la cáscara}}{\text{Longitud del huevo (mm)} \times \text{diámetro del huevo (mm)}}$$



como ya se explica en el apartado correspondiente de esta memoria. El grosor de la cáscara se obtuvo calculando la media de cinco medidas tomadas en el ecuador del huevo con un calibrador digital con un error de 0.01 mm.

▪ **Proceso de extracción**

Dos gramos de muestra fueron homogeneizados y secados químicamente al hacerlos atravesar una capa de sodio sulfato anhidro en un embudo de placa porosa. Como extractante se utilizó una mezcla de hexano:acetona en una proporción 1:1. Volúmenes constantes (10 ml), se fueron añadiendo al homogenizado hasta obtener un volumen final de 50 ml.

▪ **Determinación de lípidos**

La determinación de lípidos se realizó tomando como base 25 ml del extracto, calculando el peso resultante tras la evaporación durante 48 horas y la desecación en un desecador de solventes.

▪ **Purificación**

Se resuspendieron los lípidos en 5 ml de hexano. A continuación, 1 ml de extracto fue purificado mediante una columna cromatográfica de alúmina (0.8 g), eluyendo con n-hexano hasta conseguir un volumen de 5 ml.

Para la calibración, a cada muestra se le añadió como estándar interno Dichlorobenzil (Sigma-Aldrich®).

IV.7.3. ANÁLISIS DE OC Y PCB's.

La determinación se realizó mediante un cromatógrafo de gases Agilent 6890 equipado con un detector de captura de electrones (Agilent Micro ECD) y un autosampler Agilent 7673. La columna utilizada fue del tipo capilar (SGE HT8) de 50 m, 0.22 mm de diámetro interno y 0.25 μ m de grosor, usando como gas portador helio y como *make up* nitrógeno. Las condiciones cromatográficas se detallan en la tabla IV.7.

La identificación de los picos se realizó a través del paquete informático (Scientific Software Inc, Cambridge, UK), mediante la comparación de los tiempos de retención de picos desconocidos con aquellos de compuestos estándar (Greyhound Ltd, Birkenhead, UK).

La cuantificación se realizó a través de un standard de calibración *multilevel*. Se determinaron 7 insecticidas organoclorados (HCB, α -HCH, β -HCH, HEOD, DDE, TDE, DDT) y 36 congéneres de PCBs (números de IUPAC 8,18, 28, 29, 31, 52, 77, 81, 101, 105, 114,



118, 123, 126, 128, 138, 141, 149, 153, 156, 157, 163, 167, 169, 170, 171, 180, 183, 187, 189, 194, 199, 201, 205, 206 y 209).

Tabla IV.7. Condiciones cromatográficas.

Flujos	Gas portador Make up	He a 1 ml/min N2 a 25 ml/min
Condiciones de inyección	Temperatura inicial 20 °C 700 °C/min hasta 240°C 10 min a 240 °C	
Temperatura del detector	325°C	
Rango de temperaturas	2 min a 50°C 45 °C/min hasta 200°C 2 °C/min hasta 285°C 50 °C/min hasta 325°C 10 min a 325 °C	
Duración del cromatograma	58,63 min	
Volumen de inyección Autosampler	4 µl	

▪ Límites de detección y test de recuperabilidad

Los límites de detección para los distintos congéneres de PCBs osciló entre 0.007 µg/g a 0.019 µg/g peso húmedo y de 0.009 µg/g a 0.024 µg/g para los insecticidas organoclorados. Como control de calidad, se analizó con cada grupo de muestras, muestras de huevos enriquecidos con una cantidad conocida de organoclorados y PCBs. Los valores de recuperabilidad oscilaron entre 58.8- 87.5 %.

IV.8. ESTUDIO DE LA ULTRAESTRUCTURA DE LA CÁSCARA DE LOS HUEVOS.

El estudio de la ultraestructura de la cáscara de los huevos se realizó mediante microscopia electrónica de barrido utilizando para ello un microscopio electrónico de barrido *Jeol modelo 6.100*.

IV.8.1. TÉCNICA DE FIJACIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Se recogieron muestras del ecuador de la cáscara de los huevos de Isla Grosa una vez estas habían sido lavadas, siguiendo el mismo procedimiento descrito para el análisis de metales pesados. Las muestras así obtenidas, se fijaron en tetroxido de osmio al 1% durante 1-2 horas y se dejaron secar toda una noche en líquido lavador (tampón cacodilato más sacarosa). La deshidratación se efectuó mediante pases en alcohol etílico de gradación creciente, absoluto y acetona al 100% y el secado de las muestras se realizó



mediante el método del punto crítico en baño de acetona y CO₂ (líquido-gaseoso), en una cámara *CPDO2 Balzers Union*. El recubrimiento se realizó con oro (sputtering), de unos 200 Å de espesor en un vaporizador *Bio-Rad Polaron Division*.

IV.8.2. CAPTURA DE IMÁGENES.

Las imágenes fueron capturadas con el programa Link-Isis (Oxford Instrumets-Reino Unido), y pasadas a fotografía en la Unidad de Estudio y Proceso Digital de Imagen de la Universidad de Murcia, usando una cámara Polaroid CI5000S acoplada a un ordenador personal.

IV.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.

El análisis estadístico se realizó usando el paquete estadístico IBM SPSS® v.15.0 para Windows (Ver 15.0; SPSS, Chicago, IL, USA). El nivel de significación para todas las pruebas se estableció en $\alpha=0,05$.

IV.9.1. ESTUDIOS PRELIMINARES.

Para estudiar como afectaba el tiempo que los investigadores pasaban en la colonia con el estrés que sufrían los pollos se realizó una confirmación previa de la normalidad de la muestra usando el test Kolmogorov–Smirnov. Tras comprobar que los datos se ajustaban a la normalidad se utilizó el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson para estudiar la relación entre las variables tiempo de estancia de los investigadores en la colonia y temperatura corporal de los pollos.

Se quiso comprobar si existían diferencias entre la temperatura corporal de los pollos dependiendo de si el nido se encontraba al sol, en sol y sombra o a la sombra (a esta variable le llamamos “grado de insolación”). Para ello, primeramente, realizamos la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene. Si se comprobaba que no existían diferencias entre las varianzas procedíamos, entonces, se realizó ANOVA unifactorial. En caso de encontrar diferencias entre las varianzas, realizábamos la prueba robusta de igualdad de las medias de Welch. Posteriormente, para comprobar donde se encontraban las diferencias, realizamos pruebas Post Hoc. La prueba de la diferencia honestamente significativa de Tukey se realizó cuando asumimos igualdad de varianzas y la prueba de comparaciones múltiples de Games-Howell cuando asumimos que existían diferencias entre las varianzas.

En el estudio de la determinación del sexo en los pollos de gaviota de Audouin (sex-ratio) durante los cuatro primeros años de muestreo en Isla Grosa y con el fin de estudiar si la



proporción de sexos variaba según el año de muestreo se realizó una tabla de contingencia al tratarse de variables categóricas. Posteriormente con la prueba de Chi-cuadrado estudiamos si el sex-ratio estaba relacionado con el año en el que se realizó el muestreo. Dado que cada año la disponibilidad de recursos alimenticios puede verse influenciada por diferentes factores, de esta forma podríamos inferir cuan de importante era dicha variación para alterar el sex-ratio.

Finalmente se comparó la productividad (nº de pollos nacidos/ pareja) entre colonias utilizando U de Mann-Whitney.

IV.9.2. METALES PESADOS EN SANGRE.

Para el estudio de la concentración de metales en sangre, del total de los pollos muestreados (281) se han eliminado 10 por considerarlos “outlier” (valor atípico) tras ver cómo se ajustaban los datos de sus concentraciones a la recta en un gráfico Q-Q.

Se realizó una confirmación previa de la normalidad de la muestra usando el test Kolmogorov–Smirnov. Como las variables no se ajustaban a una distribución normal se realizó la transformación logarítmica de las mismas, lo cual no corrigió este hecho. Definitivamente se optó por la realización de pruebas no paramétricas para el análisis de los datos.

Los valores descriptivos se proporcionan como medianas. Las correspondientes medias, desviaciones estándar y rango se aportan con el fin de comparar con otros estudios

Las diferencias en la concentración de metales en sangre debidas al sexo y se estudiaron mediante U de Mann-Whitney. Para estudiar las correlaciones entre metales se calculó el coeficiente de correlación (Rho) de Spearman.

Para el estudio espacio temporal de las concentraciones de metales se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y posteriormente la U de Mann Whitney.

Con el fin de evaluar la influencia de los diferentes metales sobre la productividad de cada una de las colonias estudiadas se llevaron a cabo modelos lineales generalizados (GLM), en los que los diferentes metales actuaban solos o asociados a otros de forma aditiva o interactiva. Para ello aplicamos el enfoque metodológico de información descrito por ⁴⁹Burnham and Anderson (2002) basados en los criterios de información de Akaike, en su versión corregida:

$$AICc = -2(\ln \Lambda) + 2K + \frac{2K(K+1)}{n-K-1}$$



donde Λ es la función de verosimilitud, K es el número de parámetros del modelo, y n es el tamaño muestral. Los modelos se ordenaron en función de:

$$\Delta_i = \text{AICc}_i - \text{AICc}_{\min}$$

siendo AICc_i el valor de AICc del modelo i , y AICc_{\min} el mínimo valor de AICc de todos los modelos. Para evaluar la importancia relativa de un modelo se utilizaron los pesos de Akaike:

$$w_i = \frac{\exp\left[-\left(\frac{\Delta_i}{2}\right)\right]}{\sum \exp\left[-\left(\frac{\Delta_i}{2}\right)\right]}$$

Valores de w_i próximos a 1 evidencian que un determinado modelo representa, sin ambigüedad, el “mejor” modelo posible del conjunto de modelos seleccionados. La importancia relativa de las variables explicativas ($w_+(j)$) se puede estimar como el sumatorio de los pesos de Akaike de aquellos modelos en los que aparece la variable.

IV.9.3. ESTUDIOS DE PARÁMETROS BIOLÓGICOS EN HUEVOS.

Previo al estudio de los contaminantes en los huevos se realizó un estudio sobre diferentes parámetros biológicos (biométricos principalmente) relacionados con la viabilidad de los embriones y por tanto con la productividad de la colonia. Para ello se estudiaron índice de Ratcliffe (⁴⁸Ratcliffe, 1970), grosor de la cáscara, peso de la cáscara, longitud del huevo, diámetro del huevo, volumen del huevo y porcentaje de lípidos del contenido.

Se realizó una confirmación previa de la normalidad de la muestra usando el test Kolmogorov–Smirnov comprobando que los datos todas las variables estudiadas se ajustaban a una distribución normal. Por tanto, la comparación de medias entre poblaciones se realizó mediante el test T de Student.

IV.9.4. METALES PESADOS EN CÁSCARA DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS.

Según la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, la distribución de las concentraciones de metales pesados en cáscara de huevo no seguía una distribución normal en nuestra población de estudio para los metales Cd y Zn. Con el fin de mejorar la significación estadística, los valores de Cd y Zn en sangre se normalizaron mediante transformación logarítmica.



Para la comparación de las dos poblaciones estudiadas en cuanto a los contaminantes presentes en las cáscaras de huevos se utilizó la prueba de Levene sobre la igualdad de varianzas y pruebas T de Student de varianzas combinadas y separadas sobre la igualdad de las medias. De la misma forma se empleó la T de Student para comparar las concentraciones de metales pesados en huevos embrionados y no embrionados.

Los diferentes metales se correlacionaron entre si aplicando el coeficiente de correlación de Pearson de la misma manera que se hizo entre estos y los parámetros biométricos.

IV.9.5. COMPUESTOS ORGANOCOLORADOS EN HUEVOS NO ECLOSIONADOS.

Las concentraciones de estos compuestos se calcularon en relación al contenido lipídico. Este tipo de referencia es bastante frecuente en el estudio de contaminantes lipofílicos, a diferencia de la basada en el peso húmedo o seco (⁵⁰van den Berg *et al.*, 1994). Sin embargo, para poder comparar con otros estudios, algunos datos se calcularon también en peso húmedo corregido para la pérdida de humedad siguiendo el método descrito por ⁵¹Hoyt (1979).

Como algunos de los compuestos presentaron una elevada frecuencia de valores por debajo del límite de detección (α -HCH), se les asignó cero para el estudio estadístico.

Puesto que las concentraciones de contaminantes presentaron una distribución normal (tras aplicar la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov), las comparaciones entre colonias se realizaron mediante la prueba T de Student.

Para estudiar las relaciones entre las concentraciones de organohalogenados y los parámetros que determinan el éxito reproductivo se calculó el coeficiente de correlación de Pearson.

IV.9.6. METALES PESADOS EN PLUMAS.

Según la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, la distribución de las concentraciones de metales pesados en plumas no seguía una distribución normal en nuestra población de estudio para el metal mercurio en las plumas de los pollos y para los metales Cd, Zn Y Pb en las plumas de los adultos. Con el fin de mejorar la significación estadística, los valores de dichas variables se normalizaron mediante transformación logarítmica. Se eliminaron para el tratamiento estadístico tres ejemplares con valores atípicos (outlier).

Para comparar las concentraciones de metales en plumas entre pollos y adultos de cada una de las colonias por separado se realizó la prueba T de Student. Para comparar las



concentraciones medias de metales en plumas entre los pollos de las diferentes localidades y entre los adultos de las diferentes localidades, se realizó la prueba de ANOVA unifactorial, excepto para el metal mercurio en el caso de los pollos ya que en una de las localidades se carecía de datos sobre la misma (Delta del Ebro). En este caso se realizó la prueba T de Student. Para ello, primeramente realizamos la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene. Si se comprobaba que no existían diferencias entre las varianzas procedíamos, entonces, a realizar la ANOVA unifactorial. Esto nos permitía comprobar si existían diferencias entre nuestras poblaciones de estudio.

En caso de encontrar diferencias entre las varianzas, en la prueba de homogeneidad de varianzas, realizábamos la prueba robusta de igualdad de las medias de Welch.

Con el fin de evaluar la influencia de la localización geográfica de la colonia y la edad de los individuos se llevaron a cabo modelos lineales generalizados (GLM), en los que la localización de la colonia (colonia) o la edad de los sujetos de estudios (pollo o adulto) actuaban solos o asociados entre ellos de forma aditiva o interactiva. Para ello aplicamos el enfoque metodológico de información descrito por ⁴⁹Burnham and Anderson (2002) basados en los criterios de información de Akaike, en su versión corregida al igual que se explica en el apartado IV.9.2.

Posteriormente, para comprobar donde se encontraban las diferencias, realizamos pruebas Post Hoc. La prueba de la diferencia honestamente significativa de Tukey se realizó cuando asumimos igualdad de varianzas y la prueba de comparaciones múltiples de Games-Howell cuando asumimos que existían diferencias entre las varianzas.

El coeficiente de correlación de Pearson fue el utilizado para estudiar la relación entre las concentraciones de mercurio en plumas y en sangre de pollos nacidos en la colonia de Torreveja en 2011, con el fin de averiguar como de útil puede ser la pluma de los pollos de gaviota de Audouin para el estudio de la exposición, durante el periodo de cría, a metales pesados. Para realizar el estudio de contaminantes metálicos en plumas y cáscara de huevos se realizó la prueba T de Student tras realizar la transformación logarítmica de la variable concentración de Cu ya que tras realizar la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov se comprobó que los datos no seguían una distribución normal.





BIBLIOGRAFÍA





1. Muntaner J. La Gaviota de Audouin (*Larus audouinii*): Visión general de la especie y situación en las Islas Baleares hasta 2003. *Doc Tècnics Coservació*. 2003;II(10). doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
2. Ruiz X, González-Solís J, Oro D, Jover L. Body size variation in Audouin's Gull (*Larus audouinii*); a density-dependent effect? *Ibis (Lond 1859)*. 1998;140:431-438.
3. Genovart M, Oro D, Ruiz X, Griffiths R, Monaghan P, Nager R. Seasonal changes in brood sex composition in Audouin's Gulls. *The Condor*. 2003;105:783-790. doi:10.1650/7265.
4. De Juana E, Bradley PM, Varela Iuan M, Wm H-H. Sobre los movimientos migratorios de la Gaviota de Audouin. *Ardeola*. 1987;34:15-24. <http://www.ardeola.org/files/93.pdf>. Accessed June 24, 2017.
5. Becares, J; Arcos, J.M. y Oró D. *Migración Y Ecología Espacial de La Gaviota de Audouin En El Mediterráneo Occidental Y Noroeste Africano. Monografía N.º 1 Del Programa Migra.;* 2016.
https://www.seo.org/boletin/seguimiento/migracion/01_gaviota_audouin/pdf/Migra_1_Gaviota_de_Audouin.pdf.
6. BirdLife International. Audouin's Gull (*Larus audouinii*) - BirdLife species factsheet. 2016. <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/audouins-gull-larus-audouinii/text>. Accessed July 5, 2017.
7. IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. 2017. <http://www.iucnredlist.org/details/22694313/0>.
8. De Juana E. Noticiario Ornitológico. *Ardeola*. 1994;41(1):99. <http://www.ardeola.org/files/275.pdf>.
9. LIFE03 NAT/E/000061. Layman report: Conservation of *Larus audouinii* in Spain. Grosa Island (Murcia). http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=search.dspPage&n_proj_id=2497#AD.
10. Benito P. La vida vuelve al parque de las Salinas de San Pedro. *La Opinión de Murcia*. <http://www.laopiniondemurcia.es/comunidad/2017/06/14/vida-vuelve-parque-salinas-san/837193.html>. Published June 14, 2017.
11. Oro D, Ruxton GD. The formation and growth of seabird colonies: Audouin's gull as a case study. *J Anim Ecol*. 2001;70(3):527-535. doi:10.1046/j.1365-2656.2001.00511.x.
12. Oro D, Martínez A. Migration and dispersal of Audouin's gull (*Larus audouinii*) from the Ebro Delta colony. *Ostrich*. 1994;65(2):225-230. doi:10.1080/00306525.1994.9639686.
13. 03/Nat/E/000061 PL. *Acción C4: Valoración de Los Descartes Pesqueros Y Su Incidencia (Directa O Indirecta), Sobre La Avifauna*. http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=GaviotaMurciana_ValorizacionRecursosPesqueros.pdf. Accessed July 5, 2017.
14. Ruiz X, Oro D, Martínez-Vilalta a, Jover L. Feeding ecology of Audouin's Gulls (*Larus audouinii*) in the Ebro Delta. *Colon Waterbirds*. 1996;19(1996):68-74.



15. Witt HH, Crespo J, Juana E, Varela J. Comparative feeding ecology of Audouin's gull (*Larus audouinii*) and the Herring gull (*L. argentatus*) in the Mediterranean. *Ibis (Lond 1859)*. 1981;123(4):519-526. doi:10.1111/j.1474-919X.1981.tb04058.x.
16. Pedrocchi V, Oro D, González-Solís J, Ruiz X, Jover L. Differences in diet between the two largest breeding colonies of Audouin's gulls: the effects of fishery activities. *Sci Mar*. 2002;66(3):313-320. doi:10.3989/scimar.2002.66n3313.
17. Bécares J, García-Tarrasón M, Villero D, et al. Modelling Terrestrial and Marine Foraging Habitats in Breeding Audouin's Gulls *Larus audouinii*: Timing Matters. *PLoS One*. 2015;10(4):e0120799. doi:10.1371/journal.pone.0120799.
18. Oro D, Hernández N, Jover L, Genovart M. From recruitment to senescence: Food shapes the age-dependent pattern of breeding performance in a long-lived bird. *Ecology*. 2014;95(2):446-457. doi:10.1890/13-0331.1.
19. Oro D, Jover L, Ruiz X. Influence of trawling activity on the breeding ecology of a threatened seabird, Audouin's gull *Larus audouinii*. *Mar Ecol Prog Ser*. 1996;139:19-29. doi:10.3354/meps139019.
20. Oró D. Audouin's gull account. In: Ogilvie MA, ed. *The Birds of Western Palearctic*. Vol Oxford: Oxford University Press; 1998:47-61.
21. D.O.U.E. nº L 20. Directiva 2009/147/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009, relativa a la conservación de las aves silvestres. 2010:7-25. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009L0147&from=ES>.
22. EUR-Lex - I28084 - EN. Convenio de Barcelona para la protección del Mar Mediterráneo. 1975. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=LEGISSUM%3AI28084>.
23. D.O.C.E. nº L 210. Decisión del Consejo, de 24 de junio de 1982, relativa a la celebración del Convenio sobre conservación de las especies migratorias de la fauna silvestre (82/461/CEE). 1982:215-227. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31982D0461&from=ES>. Accessed September 12, 2017.
24. B.O.E. nº 235. Instrumento de ratificación del Convenio relativo a la conservación de la vida silvestre y del medio natural en Europa, hecho en Berna el 19 de septiembre de 1979. 1986:33547-33555. <http://www.boe.es/boe/dias/1986/10/01/pdfs/A33547-33555.pdf>.
25. B.O.E. nº 46. Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas. 2011:20912-20951. <https://www.boe.es/boe/dias/2011/02/23/pdfs/BOE-A-2011-3582.pdf>.
26. Madroño A, González C, Atienza JC (Eds). *Libro Rojo de Las Aves de España*. Madrid: Dirección General para la Biodiversidad-SEO/Birdlife; 2004. http://www.mapama.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/LR_completo_para_web_tcm7-164856.pdf.
27. Biovisual Proyectos Ambientales. Visitando islas e islotes del litoral mediterráneo regional. *Rev 'Murcia enclave Ambient*. 2007. <http://www.murciaenclaveambiental.es/junio-2007.html?idSe=68>. Accessed August 26, 2017.
28. B.O.E. nº 22. Ley 4/1992, de 30 de julio, de Ordenación y Protección del Territorio de la



- Región de Murcia. 1993:1971-1982.
29. B.O.E. nº 131. Ley 7/1995, de 21 de abril, de la fauna silvestre, caza y pesca fluvial. 1995:16248-16271.
 30. D.O.C.E. nº L 206. Directiva 92/43/CEE, de 21 de mayo de 1992, relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres. 1992:7-50. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31992L0043&from=ES>.
 31. D.O.G.V. nº 993. Decreto 189/1988, de 12 de diciembre, del Consell de la Generalitat Valenciana, de declaración del Paraje Natural de la Comunidad Valenciana de Las Lagunas de la Mata y Torrevieja. 1989. http://www.dogv.gva.es/portal/ficha_disposicion_pc.jsp?sig=0197/1989&L=1.
 32. D.O.G.V nº 2892. Decreto 237/1996, de 10 de diciembre, del Gobierno Valenciano, de declaración del Parque Natural de las Lagunas de la Mata y Torrevieja. 1996.
 33. B.O.E. nº 110. Convenio relativo a humedales de importancia internacional especialmente como hábitat de aves acuáticas, hecho en Ramsar el 2 de febrero de 1971. Designación de nuevos humedales por parte de España. 1990:12158-12190. <http://www.boe.es/boe/dias/1990/05/08/pdfs/A12158-12190.pdf>.
 34. B.O.E. nº 71. Resolución de 9 de marzo de 2011, de la Dirección General de Medio Natural y Política Forestal, por la que se incluyen en el Inventario Español de Zonas Húmedas 48 humedales de la Comunitat Valenciana. 2011:31709-31757. <https://www.boe.es/boe/dias/2011/03/24/pdfs/BOE-A-2011-5372.pdf>.
 35. D.O.G.V. nº 2423. Acuerdo de 10 de septiembre de 2002, del Gobierno Valenciano, de aprobación del Catálogo de Zonas Húmedas de la Comunidad Valenciana. 2002. http://www.dogv.gva.es/portal/ficha_disposicion.jsp?id=null&sig=3971/2002&L=1&url_lista=.
 36. D.O.G.C. nº 799. Decret 332/1986, de 23 d'octubre, sobre declaració del Parc Natural del Delta de l'Ebre i de les Reserves Naturals Parcials de la Punta de la Banya i de l'Illa de Sapinya. 1986:4244-4247. http://parcsnaturals.gencat.cat/web/.content/home/delta_de_lebre/coneix-nos/organs_rectors/decret_332-1986_23_octubre_declaracio_deb.pdf. Accessed September 22, 2017.
 37. Bota Cabau G, Guixe Cormines D, Pou Álvarez N, Parpal Servole J. Anejo 6. Instrumento de gestión de las Zonas Especiales de Conservación que se declaran en la región mediterránea. 2014. http://www.gencat.cat/mediamb/xn2000/Acuerdo_150_2014_Anejo6_Instrumento_Gestion.pdf.
 38. B.O.E. nº 103 (Suplemento 13). Llei 14/1991, de 29 d'abril, de creació del Parc nacional maritimoterrestre de l'arxipèlag de Cabrera. 1991:51-52.
 39. McMinn Grivé M, Rodríguez Molina A. Acciones aves marinas 2009 (Ichthyaetus audouinii) Gaviota de Audouin. Censo de la población nidificante en Mallorca fuera de Espacios Naturales Protegidos. 2010. https://www.caib.es/sites/proteccioespecies/ca/d/actuaciones_gaviota_audouin_larus_audouinii_mallorca_2010-71393/.



40. Griffiths R, Double MC, Orr K, Dawson RJ. A DNA test to sex most birds. *Mol Ecol*. 1998;7(8):1071-1075. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9711866>. Accessed July 1, 2017.
41. Garcia-Fernandez A, Sanchez-Garcia JA, Jimenez-Montalban P, Luna A. Lead and cadmium in wild birds in southeastern Spain. *Environ Toxicol Chem*. 1995;14(12):2049-2058. doi:10.1002/etc.5620141207.
42. Oehme M, Lund W. Comparison of digestion procedures for the determination of heavy metals (Cd, Cu, Pb) in blood by anodic stripping voltammetry. *Fresenius' Zeitschrift für Anal Chem*. 1979;298(4):260-268. doi:10.1007/BF00510690.
43. Espín S, Martínez-López E, Gómez-Ramírez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Razorbills (*Alca torda*) as bioindicators of mercury pollution in the southwestern Mediterranean. *Mar Pollut Bull*. 2012;64(11):2461-2470. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.07.045.
44. Martínez-López E. Evaluación de la exposición a contaminantes ambientales persistentes (cadmio, plomo y compuestos organoclorados) en rapaces forestales, y uso de células sanguíneas para evaluar sus efectos. *Tesis Dr Eur Univ Murcia*. 2005:305.
45. Martínez-López E, Martínez JE, María-Mojica P, et al. Lead in feathers and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in three raptor species from an unpolluted Mediterranean forest (Southeastern Spain). *Arch Environ Contam Toxicol*. 2004;47(2):270-275. doi:10.1007/s00244-004-3027-z.
46. Newton I, Dale L, Little B. Trends in organochlorine and mercurial compounds in the eggs of British Merlins *Falco columbarius*. *Bird Study*. 1999;46(3):356-362. doi:10.1080/00063659909461150.
47. Wienburg CL, Shore RF. Factors influencing liver PCB concentrations in sparrowhawks (*Accipiter nisus*), kestrels (*Falco tinnunculus*) and herons (*Ardea cinerea*) in Britain. *Environ Pollut*. 2004;132(1):41-50. doi:10.1016/j.envpol.2004.03.027.
48. Ratcliffe D a. Changes Attributable to Pesticides in Egg Breakage Frequency and Eggshell Thickness in Some British Birds. *J Appl Ecol*. 1970;7(1):67-115. doi:10.2307/2401613.
49. Burnham KKP, Anderson DRD. *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach (2nd Ed)*. Vol 172. Springer-Verlag; 2002. doi:10.1016/j.ecolmodel.2003.11.004.
50. Van Den Berg M, Craane BLHJ, Sinnige T, et al. Biochemical and toxic effects of polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-P-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in the cormorant (*Phalacrocorax carbo*) after in ovo exposure. *Environ Toxicol Chem*. 1994;13(5):803-816. doi:10.1002/etc.5620130516.
51. Hoyt DF. Practical Methods of Estimating Volume and Fresh Weight of Bird Eggs. *The Auk*. 1979;96(1):73-77. <http://www.jstor.org/stable/4085401>.



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN





V.1. ESTUDIOS PRELIMINARES EN LAS COLONIAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

V.1.1. EFECTOS DEL MUESTREO SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL.

Como ya hemos mencionado anteriormente, consideramos que era fundamental para nuestro estudio eliminar cualquier factor que pudiera incrementar el estrés de los pollos de gaviota que eran sometidos a las prácticas propias del anillamiento científico.

La extracción de sangre de los pollos que estaban siendo anillados, actividad ya de por sí estresante pero no evitable, podría incrementar el tiempo de actuación, quedando los animales expuestos a las rigurosidades climatológicas, principalmente a los efectos de la insolación directa, ya que los padres abandonan los nidos nada más acceder a la colonia y durante el tiempo que dura la actuación científica. Por tanto, al abordar el estudio de la colonia de Gaviota de Audouin de Isla Grosa, en el año 2001, se nos plantearon una serie de incógnitas que considerábamos que debían ser resueltas antes de dar continuidad a nuestros trabajos de investigación. Para ello, llevamos a cabo una serie de análisis en la misma durante la primera sesión de anillamiento.

Por un lado queríamos valorar hasta qué punto nuestra actuación de toma de muestras, durante el anillamiento científico de los pollos, podría suponer un riesgo añadido de estrés para los mismos debido a que esta podría aumentar el tiempo de manipulación en la colonia.

También queríamos saber qué tipo de individuos objeto de estudio se encontrarían, ya que, al acceder a la colonia entre la tercera y la cuarta semana posterior a la eclosión de los primeros huevos, podríamos encontrar solo a pollos supervivientes, dado que aquellos que tuvieran mayor estrés debido a una privación alimentaria o cualquier patología incluida la exposición a contaminantes podrían haber desaparecido.

Por otro lado queríamos conocer si la disponibilidad de alimentos para los pollos podría alterar los datos de productividad y por ende dificultar la interpretación de los resultados.

Estudiando por separado la temperatura de los pollos según la localización del nido (sol, sol y sombra o sombra), se comprobó mediante el test de correlación de Pearson como no existía relación significativa entre la temperatura corporal de los pollos y el tiempo de actuación en la colonia.

Sin embargo, existían diferencias significativas ($p < 0,001$), en las temperaturas corporales de los pollos dependiendo que se encontraran los nidos al sol (T^{a} media= 33,4°C), sol/sombra (T^{a} media= 30,8°C), o sombra (T^{a} media= 27,9°C). Se comprobó por tanto que



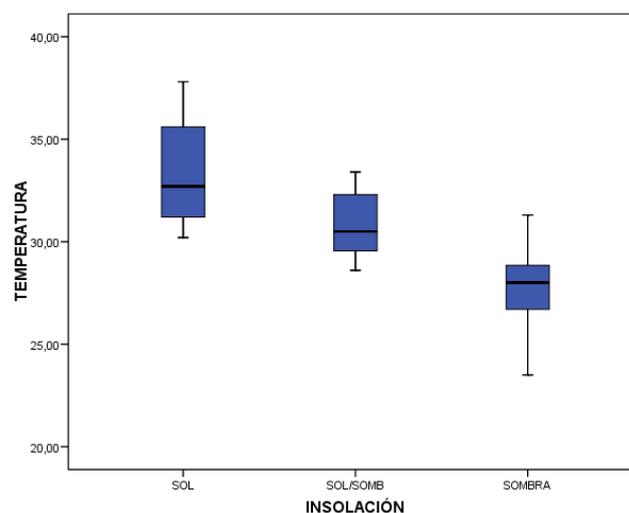
los pollos que se encontraban al sol presentaban mayor temperatura corporal que los que se encontraban entre sol y sombra ($p=0,04$), y que los que se encontraban a la sombra ($p<0,001$). También se constató que los que se encontraban entre sol y sombra presentaban temperaturas superiores a los que se encontraban a la sombra ($p=0,007$), (tabla V.1 y gráfico V.1).

La exposición directa al sol pareció tener más importancia en la temperatura corporal de los animales que el grado de estrés al que fueron sometidos. No obstante, la temperatura corporal de los animales nunca llegó a alcanzar valores preocupantes para la salud de los mismos. A pesar de que, en los pollos que se encontraban al sol la temperatura llegó a superar los 32°C, considerado el umbral para el padecimiento de estrés térmico en aves (¹De Basilio y Cori, 2016), no apreciamos que se mantuviera un tiempo suficiente para considerarla un riesgo, ya que los pollos no mostraron en ningún momento mecanismos de termorregulación, como jadeos, letargia o extensión de las alas (²Lara y Rostagno, 2013), que nos hiciesen suponer lo contrario, salvo en un ejemplar en el que se registró una temperatura de 37,8°C, el cual presentaba taquipnea y pico abierto. Por tanto, este es un factor a tener en cuenta cuando se trabaje en colonias de aves en las que los animales no cuenten con protección a la radiación solar, de manera que en estas condiciones, el tiempo de intervención en la colonia debe de ser el mínimo posible.

Tabla V.1. Temperatura corporal de los pollos dependiendo de su exposición solar.

GRADO DE INSOLACIÓN	TEMPERATURA CORPORAL (°C)		
	n	$\bar{x} \pm sd$	Mediana (mín - máx)
SOL	10	33,4 \pm 2,56	32,7 (30,2-37,8)
SOL/SOMBRA	8	30,8 \pm 1,68	30,5 (28,6-33,4)
SOMBRA	19	27,9 \pm 2,10	28 (23,5-31,3)

Gráfico V.1 Temperatura corporal de los pollos dependiendo de su exposición solar





V.1.2. FALLOS REPRODUCTIVOS PREVIOS A LA INTERVENCIÓN EN LA COLONIA.

Es habitual que cuando se realizan estudios toxicológicos en pollos de especies de aves coloniales, los muestreos se realicen sobre los pollos sobrevivientes encontrados en el momento de la intervención. Son estos, por tanto, los que son objeto de estudio.

Este hecho, puede infravalorar los datos obtenidos, sobre todo si los parámetros estudiados pueden influir sobre la supervivencia de los neonatos. Queríamos saber si la mortalidad perinatal podría cuestionar los resultados obtenidos y de esta manera poder valorar desde un punto más objetivo dichos resultados.

Durante la temporada reproductiva de 2001, mientras se realizaba el anillamiento científico, se anotaron todos los casos de mortalidad perinatal encontrados en la colonia de cría de Isla Grosa. Para ello se recogieron todos los cadáveres y huevos no eclosionados para posteriormente ser estudiados. Se contabilizaron un total de 144 eventos mortales, de los cuales 88 fueron huevos no eclosionados con mortalidad embrionaria (61,97%), 40 fueron pollos de 0 a 7 días de edad (28,16%), 9 fueron pollos de 7 a 21 días de edad (6,33%) y 5 resultaron ser pollos de más de 21 días de edad (3,52%), (gráfico V.2).

A la vista de estos resultados, parece ser que, los eventos mortales se producen principalmente durante la incubación, seguido de los animales con menos de 7 días de edad. En estos estadios tempranos del proceso reproductivo se producen el 90% de las bajas. Este hecho está en consonancia con lo encontrado por ³Oró *et al.* (1996), en una colonia de cría en el Delta del Ebro, a la cual le afectó la moratoria (veda) para la pesca de arrastre en el periodo pre-puesta y nacimiento de los pollos. En este caso, la mayor parte de las muertes perinatales se produjeron durante la incubación y en los pollos de 7 días de edad o menos. Esta moratoria, en el Delta del Ebro, donde las Gaviotas de Audouin consumen principalmente descartes procedentes de la actividad pesquera, supone una privación alimenticia tanto para los parentales como para los pollos en sus primeros días de vida (³Ruiz *et al.*, 1996), lo que puede suponer un problema para la supervivencia tanto de embriones, posiblemente por falta de cuidados de la puesta, como de los mismos pollos.

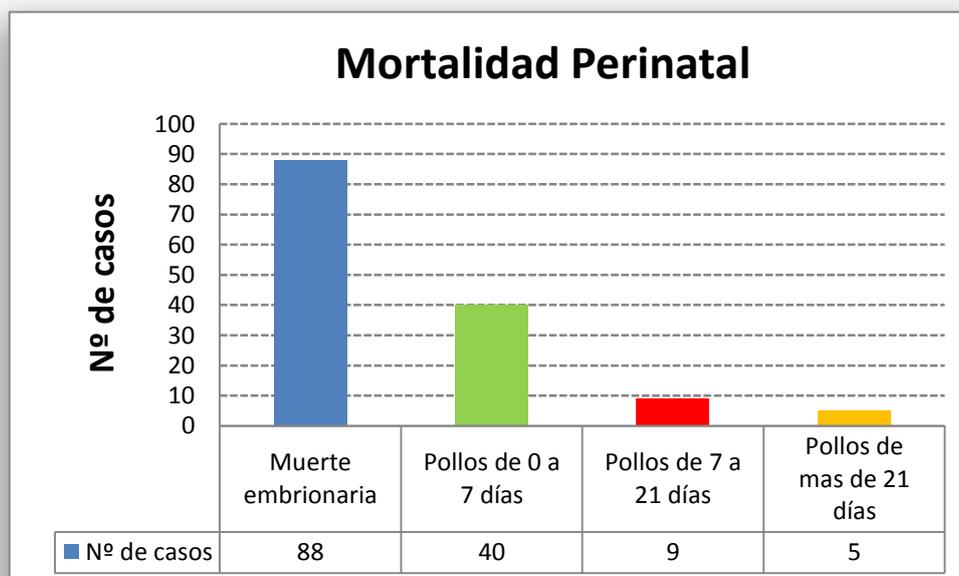
En Isla Grosa las gaviotas no se alimentan de descartes de la flota de arrastre sino de los peces en el levantamiento de redes de la flota de cerco, por lo que suponemos que otro problema pudo influir en la supervivencia perinatal este año.

El año que se llevó a cabo este estudio, la productividad de la colonia fue similar (0,67 pollos/pareja), a otras colonias del entorno en años posteriores (⁴Sarzo *et al.*, 2011), por



lo que no era de esperar un elevado número de fallos reproductivos. Aunque el número de eventos no resulta relevante posiblemente por la imposibilidad de detectar todos los acaecidos, si es importante conocer cómo se distribuyen las mismas. Según esto, una vez que los pollos alcanzan los siete días de edad sus posibilidades de supervivencia son altas en relación con las clases de edad más bajas. Ya que nuestro muestreo se realiza sobre animales con aproximadamente 21 días de edad, se presume que estos son los animales más fuertes o cuyas patologías no tienen la suficiente relevancia como para causarles un grave deterioro de su salud (menos patógenos, menos contaminantes, mejor alimentados, etc.). Este hecho hay que tenerlo en cuenta a la hora de la interpretación de los resultados de este tipo de estudios. Lo que podemos concluir, es que la incubación y los primeros 7 días de edad son los periodos más sensibles durante la reproducción de esta especie y que la exposición a contaminantes en los pollos de Gaviota de Audouin están subestimados y por tanto, la relación de dicha exposición con el éxito reproductivo.

Gráfico V.2. Mortalidad perinatal dependiendo de la edad.



V.1.3. DETERMINACIÓN DEL SEXO EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

Durante los años 2002 a 2005, se recolectaron muestras de sangre de pollos menores de 25 días, de la colonia de reproducción ubicada en la Isla Grosa, con el fin de intentar determinar si existían limitaciones en la disponibilidad de recursos tróficos de los progenitores antes de la puesta. Esta acción era importante a la hora de dilucidar la posible influencia de la restricción alimenticia de los adultos reproductores sobre la “productividad” de la colonia, ya que si estos no están bien alimentados, difícilmente



podrán cuidar bien de la progenie poniendo en peligro su supervivencia. De ser así, por tanto, esta condición podría influir a la hora de analizar los resultados sobre la afección de los contaminantes ambientales sobre ese parámetro reproductor.

Posiblemente por una mala conservación de las muestras, los resultados de los análisis del año 2004 no fueron concluyentes. Aunque para la realización de técnicas genéticas en sangre se recomienda la utilización de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) como anticoagulante, descartamos que fuera el uso de tubos para hematología adicionados con heparina de litio, lo que alteró el ADN de las muestras sanguíneas ya que el mismo protocolo fue empleado cada año durante la extracción. Por tanto, solo se sexaron con éxito un total de 95 pollos nacidos en 2002, 2003 y 2005, con un resultado de 58 machos y 37 hembras (probabilidad de ser macho: hembra, 1,63: 1).

Se observó que para el año 2002, el 48,3% de los pollos fueron hembras frente al 51,7% que fueron machos, para el año 2003 el resultado fue de 31,8% hembras frente 68,2% machos y en 2005 se encontraron 40,9% de hembras frente a un 59,1% de machos (tabla V.2 y gráfico V.3)

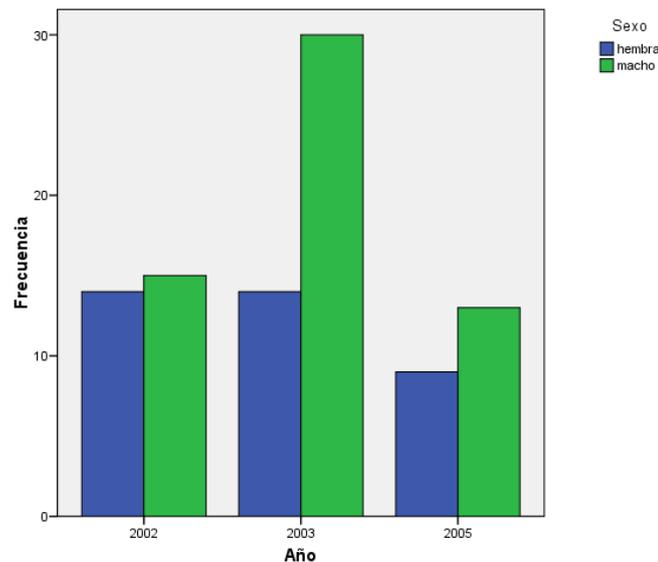
Tabla V.2. Número de pollos por sexos en los diferentes años estudiados (entre paréntesis de muestra el porcentaje para cada año).

	HEMBRA	MACHO	PRODUCTIVIDAD
2002 (n=29)	14 (48,3%)	15 (51,7%)	0,12
2003 (n=44)	14 (31,8%)	30 (68,2%)	1,70
2005 (n=22)	9 (40,9%)	13 (59,1%)	1,09

Tras realizar las tablas de contingencia para los diferentes sexos encontrados en cada año de muestreo, se realizó la prueba Chi-cuadrado de Pearson para ver si la proporción de sexos era independiente del año en el que se muestrearon los pollos o por el contrario los sexos variaban dependiendo del año. En dicha prueba obtuvimos un $p=0,361$, por lo que aceptamos nuestra hipótesis nula de que no existieron diferencias en la proporción de sexos debidas al año de muestreo.



Gráfico V.3. Número de hembras y machos en la Colonia de Isla Grosa entre los años 2002-2005.



Por tanto, durante el periodo comprendido entre 2002 y 2005, la colonia reproductiva se comportó de una manera similar en cuanto a la selección del sexo de los pollos. A la vista de estos resultados se podría predecir que los parentales habían previsto disponer de suficiente alimento para la cría de su progenie, por lo que el sex-ratio de la misma estaba desviado claramente hacia los machos.

No obstante, en esta especie, cuyo tamaño medio de puesta es de tres huevos y estos eclosionan asincrónicamente, no todos los pollos de una misma nidada tienen el mismo sexo de manera que se ha comprobado que en una población saludable, la probabilidad de que el primer huevo sea macho es del 50%, si la puesta se realiza a principio de la temporada de cría, y va aumentando conforme avanza esta, siempre que los recursos alimenticios en la época pre-reproductiva sean suficientes. El segundo y tercer huevo suele ser hembra al principio y al final de la temporada reproductiva aunque son machos hacia la mitad del periodo reproductivo (⁵Genovart et al, 2003).

Nuestros resultados pueden estar en consonancia con este hecho, ya que la toma de muestras se realizó el 14 de junio y se estimó como fecha de eclosión de los pollos muestreados alrededor del 24 de mayo, es decir, a mitad del periodo reproductivo, en el cual se espera una mayor proporción de machos que de hembras. Por tanto, el sex ratio se comportó como era de esperar en una colonia reproductiva, en principio, bien alimentada.

No obstante destacar que, si la condición corporal de los padres no se ve seriamente mermada por la falta de alimento, no se activa el mecanismo adaptativo de selección de sexos por parte de los parentales ya que existen mecanismos, como la reducción del

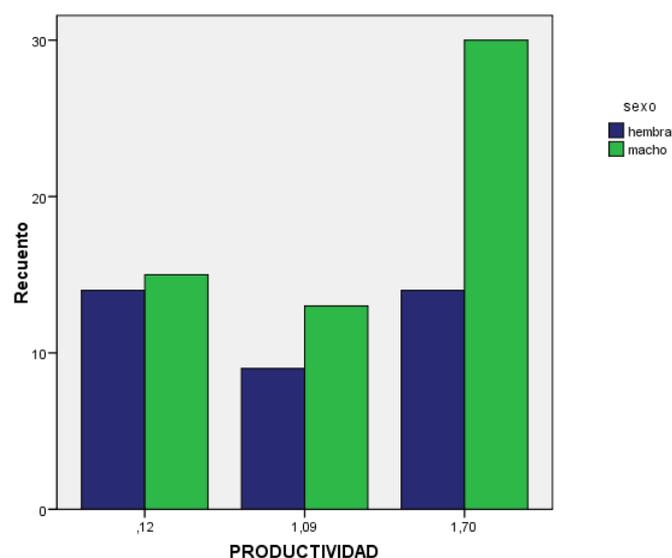


tamaño de la puesta, que pueden implementarse antes de que esto suceda (⁶Genovart et al., 2003).

Lo que si pudimos observar es que cuando la productividad de la colonia aumenta, la diferencia a favor de los machos se hace más evidente (gráfico V.4). Esto parece apuntar en el sentido de cierta selección de sexos, “a priori” por parte de los padres o “a posteriori” (por ejemplo con mayor mortandad de machos que de hembras), por otros factores que intentaremos identificar en esta memoria. De hecho, como ya se ha indicado anteriormente, en un conteo sobre el fracaso reproductivo realizado en dicha colonia, se contabilizaron un total de 144 eventos que comprendían: muerte embrionaria sin eclosión (61,97%), pollos fallecidos en los primeros siete días de vida (28,16%), pollos fallecidos entre el día 7 y el 21 (6,33%) y pollos fallecidos con más de 21 días (3,52%). Esto supone que cuando se realiza la toma de muestras la mayoría de los eventos relacionados con los fallos reproductivos ya han sucedido, por lo que nuestra percepción del problema se ve alterada.

Es posible, por tanto, que en años con muy baja productividad la posibilidad de encontrar machos en el día 21 sea menor que en periodos reproductores con productividad más alta, ya que al ser los machos el género que más necesidad de cuidados parentales precisa, por su mayor tamaño en relación a las hembras, se pueden ver afectados de una manera más importante por la escasez de recursos alimenticios y por la exposición a contaminantes.

Gráfico V.4. Proporción de hembras y machos en la Colonia de Isla Grosa entre los años 2002-2005 de acuerdo a la productividad de la colonia.





V.2. EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN DE DOS COLONIAS DE REPRODUCCIÓN DEL SURESTE DE ESPAÑA.

Para comprobar en qué grado se encuentra expuesta esta especie a la contaminación por metales pesados y si existen riesgos asociados a su exposición, se analizaron los niveles de zinc, cadmio, plomo, cobre y mercurio de pollos procedentes de dos colonias de cría cercanas pero situadas en dos hábitats bien distintos, una en un islote de origen volcánico situado a 2,5 km (1,35 millas marinas) de la costa (Isla Grosa) y la otra en una escombrera situada en los terrenos anexos a una explotación salinera en tierra (Salinas de Torrevieja). Ambos lugares de nidificación se encuentran alejados uno del otro una distancia de 28 km. La primera colonia (Isla Grosa), se estudió durante el periodo comprendido entre 2002 y 2006 y la segunda (Torrevieja), entre 2008 y 2011. Mencionar que en el año 2002 no se analizaron las concentraciones de cobre por lo que para los estudios estadísticos realizados con este metal, dicho año no ha sido tenido en cuenta.



Imagen V.1. Localización de las colonias reproductivas de Torrevieja (flecha arriba) e Isla Grosa (flecha abajo). FUENTE: Elaboración propia.

El análisis estadístico se realizó usando el paquete estadístico IBM SPSS v.15.0 para Windows. Las concentraciones de metales son representadas mediante la media±desviación típica, mediana, y rango (mínimo y máximo).

Se realizó una confirmación previa de la normalidad de la muestra usando el test Kolmogorov–Smirnov. Como las variables no se ajustaban a una distribución normal se realizó la transformación logarítmica de las mismas, lo cual no corrigió este hecho. Definitivamente se optó por la realización de pruebas no paramétricas (U de Mann-Whitney) para el análisis de los datos.

V.2.1. METALES PESADOS (Cd, Pb, Cu, Zn y Hg) EN SANGRE DE POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

Para el estudio de la concentración de metales en sangre, del total de los pollos muestreados (281), se han eliminado 10 por considerarlos “outlier” (valor atípico), tras



ver cómo se ajustaban los datos de sus concentraciones a la recta en un gráfico Q-Q. Los tres ejemplares excluidos para el metal zinc presentaban niveles por encima de 2131 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Se trató de tres pollos de Isla Grosa, dos del año 2004 y uno del año 2005. El único excluido para el metal cadmio presentó una concentración por encima de 11,5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ y se trataba de un pollo de Torrevieja del año 2011. Los dos excluidos para el metal plomo presentaban concentraciones por encima de 53 $\mu\text{g}/\text{dl}$; dos pollos de Isla Grosa, uno del año 2004 y otro del año 2005. Para el metal cobre, los dos excluidos presentaron concentraciones por encima de 258 $\mu\text{g}/\text{dl}$; un pollo del año 2003 de Isla Grosa y otro del año 2010 de Torrevieja. Por último, para el metal mercurio los dos excluidos presentaron concentraciones por encima de 410 $\mu\text{g}/\text{dl}$ y fueron dos pollos de la colonia de Torrevieja uno del año 2009 y otro del año 2010.

▪ Cadmio

De los cinco metales estudiados el cadmio fue el menos detectado (48,2%), con una media para el conjunto de las muestras estudiadas de $0,23 \pm 0,51 \mu\text{g}/\text{dl}$ (tabla V.3). Aunque los niveles de referencia para aves no expuestas a contaminación por cadmio no están en la actualidad establecidos, estos resultados son similares e incluso más bajos a los encontrados por otros autores en Garza real (*Ardea cinerea*) y Garcilla bueyera (*Bubulcus ibis*; ⁷García-Fernández *et al.*, 1995) y en Gaviota Argéntea (*Larus argentatus*) y Gaviota de Franklin (*Larus pipixcan*; ⁹Burger y Gochfeld, 1997), de zonas supuestamente no contaminadas, por lo que podríamos considerar que se trata de aves sometidas a exposición de base. Aunque no se han establecido los niveles de toxicidad para este metal en aves, se ha observado la aparición de efectos subletales a niveles no demasiado elevados (1,7 $\mu\text{g}/\text{dl}$) en faisanes (²²Swiergosz-Kowaleska, 2000). Estos valores solo fueron superados por siete individuos, uno en 2004 (3,03 $\mu\text{g}/\text{dl}$), tres en 2005 (1,81 $\mu\text{g}/\text{dl}$; 2,80 $\mu\text{g}/\text{dl}$; 3,90 $\mu\text{g}/\text{dl}$) en Isla Grosa y tres en 2011 en las Salinas de Torrevieja (11,58 $\mu\text{g}/\text{dl}$; 2,27 $\mu\text{g}/\text{dl}$; 3,80 $\mu\text{g}/\text{dl}$). No obstante, si exceptuamos a estos animales, en general, en ninguna de las colonias observamos niveles superiores a los encontrados por ⁸Baos *et al.* (2006) en Cigüeña blanca (*Ciconia ciconia*) y Milano negro (*Milvus migrans*) (máximo 9,85 $\mu\text{g}/\text{dl}$) y que estos autores no pudieron correlacionar con alteraciones del sistema inmune.

▪ Plomo

En el mismo sentido, los niveles medios de plomo en sangre del conjunto de la población, $6,97 \pm 6,13 \mu\text{g}/\text{dl}$ (tabla V.3), pueden considerarse dentro del rango establecido para aves no expuestas ($< 15 \mu\text{g}/\text{dl}$) (⁹Hoffman *et al.*, 1981; ¹⁰Pattee y Hennes, 1983, ¹¹Scheuhammer, 1989; ¹²Henny *et al.*, 1991; ¹³García-Fernández *et al.*, 1997; ¹⁴Martínez-



López *et al.*, 2004,)), y por debajo de los niveles encontrados en gaviotas de áreas contaminadas (9,4-17,6 µg/dl) (¹⁵Burger y Gochfeld, 1997). A pesar de ello, hay autores que apuntan la posibilidad de la existencia de efectos adversos sobre procesos bioenzimáticos, como por ejemplo la inhibición de la enzima δ-ALAD, por encima de 4µg/dl (¹²Henny *et al.*,1991; ¹⁴Martínez-López *et al.*,2004; ¹⁶Gómez-Ramírez *et al.*, 2011) y en el caso de pollos de Gaviota de Audouin se ha sospechado la aparición de efectos de inhibición enzimática por encima de 3 µg/dl de Pb en sangre, infiriendo la posibilidad de que las afecciones producidas por la exposición a plomo ambiental podrían depender de la especie y la edad del animal estudiado (¹⁷Espín *et al.*, 2015). Por otro lado, 30 pollos, el 10,67% de las muestras, superaron los 15 µg/dL. Siguiendo los criterios descritos por ¹¹Scheuhammer (1989), estos pollos podrían estar expuestos a niveles inusuales de plomo. Nueve pollos, el 3,20% de las muestras, superaron los 20 µg/dl considerados por el mismo autor como valores de exposición a plomo moderadamente altos.

▪ Mercurio

Los niveles medios de mercurio en sangre para el conjunto de la población estudiada fueron de 35,58±37,81µg/dl (tabla V.3). Este resultado se encuentra bastante alejado del valor de 100 µg/dl que se describía como inductor de la aparición de efectos reproductivos o comportamentales en Colimbo grande (*Gavia immer*), razón por la cual se consideró este nivel como el NOAEL (nivel sin efecto adverso observado) en esta especie (¹⁸Evers *et al.*, 2004). Concentraciones en sangre de 30 µg/ml o mayores en colimbos juveniles de 4 a 6 semanas de edad, se asocian con menor número de pollos nacidos o que sobreviven a las 8 semanas de vida (¹⁹Evers y Reaman, 1998). En relación a esto cabe destacar que 76 pollos, lo que representa el 27,04% de las muestras, superaron este umbral.

▪ Zinc y cobre

Los niveles medios de los dos metales esenciales para el conjunto de la población fueron 496,61±236,51 µg/dl para el zinc y 23,79±28,33 µg/dl para el cobre (tabla V.3). Aunque los niveles de zinc no llegan a alcanzar los descritos para aves intoxicadas (²⁰Zdziarski *et al.*, 1994; ²¹Carpenter *et al.*, 2004; ²²Sileo *et al.*, 2003) están por encima de los que algunos autores consideran que son más propios de aves sanas (²³Osofski *et al.*, 2001; ²⁴García-Fernández *et al.*, 2005). ²⁵Blanco *et al.* (2003) encontraron niveles similares en Milanos negros (*Milvus migrans*) de zonas contaminadas. Además, cabe señalar que 63 aves, el 22,41% de las muestras, se encuentran dentro del rango 640-3200 µg/dl de zinc en sangre descritos por los autores anteriormente citados para aves intoxicadas. No obstante, la mayoría de las animales regulan los niveles de zinc en su organismo de forma



efectiva y son capaces de tolerar un exceso de zinc en la dieta (²⁶Ewan, 1978; ²²Sileo *et al.*, 2003), por lo que altas concentraciones de este metal no son alarmantes desde el punto de vista toxicológico (²⁷Goede, 1985). La concentración media de cobre en sangre se encuentra entre los valores normales para las aves (²⁴García-Fernández *et al.*, 2005) y no superan los valores encontrados en otras aves en zonas no contaminadas (²⁸Rattner *et al.*, 2008; ²⁹Gomez-Ramirez, 2011; ³⁰Langner *et al.*, 2012) salvo en 40 ejemplares, lo que supone un 14,23% de las muestras analizadas. Solo seis de los pollos estudiados (el 2,13% de la muestra) superaron los 120 µg/dl considerado como el límite para aves sanas por ³¹García-Fernández *et al.* (2005). No obstante, los niveles en sangre relacionados con la intoxicación por cobre son desconocidos y la bibliografía relacionada con los niveles de base es escasa. A pesar de la capacidad homeostática del organismo para regular estos elementos una exposición extraordinaria a ellos pueden representar un problema añadido para aquellos individuos que ya estén sometidos a condiciones estresantes (³²Pérez-López *et al.*, 2008), como es el caso de los animales en desarrollo.

Tabla V.3. Estadísticos descriptivos de la concentración media de metales pesados en sangre (µg/dl) de pollos de Gaviota de Audouin del conjunto de la población estudiada. (\bar{x} =Media; sd=desviación estándar; n = 271; nd= no detectado).

Metales	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (mínimo-máximo)
Cadmio	0,23 ± 0,51	0,02 (nd ₍₁₃₂₎ -3,90)
Plomo	6,97 ± 6,13	5,87 (nd ₍₂₎ -41,75)
Cobre	23,79 ± 28,33	18,50 (6,40-261,50)
Zinc	496,61 ± 236,51	447,50 (33,81-1608)
Mercurio	35,58 ± 37,81	18,50 (6,40-261,50)

V.2.2. DIFERENCIAS EN NIVELES DE METALES EN SANGRE ENTRE COLONIAS DE REPRODUCCIÓN DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

Tras el tratamiento estadístico de los datos se observó que las concentraciones medianas de plomo y cadmio eran significativamente mayores ($p < 0,01$) en Isla Grosa (Pb = 6,95 y Cd = 0,15 µg/dl) que en Torrevieja (Pb = 2,75 µg/dl y Cd = n. d.) (tabla V.4.). Además, las concentraciones de plomo y cadmio en los pollos de Isla Grosa fueron superiores a las encontradas en pollos de cigüeña blanca del Parque Nacional de Doñana (³³Baos, 2006), tras la rotura de la balsa de lodos de una mina en Aznalcoyar (Sevilla), con altas concentraciones de As, Cd, Cu, Pb y Zn (³⁴Bernal *et al.*, 2007) y en Milanos negros y Búhos reales de otras zonas contaminadas por incineradoras de residuos sólidos urbanos y minería (³⁵Benito *et al.*, 1999; ²⁵Blanco *et al.*, 2003; ⁸Baos *et al.*, 2006; ¹⁶Gomez-Ramirez, 2011).

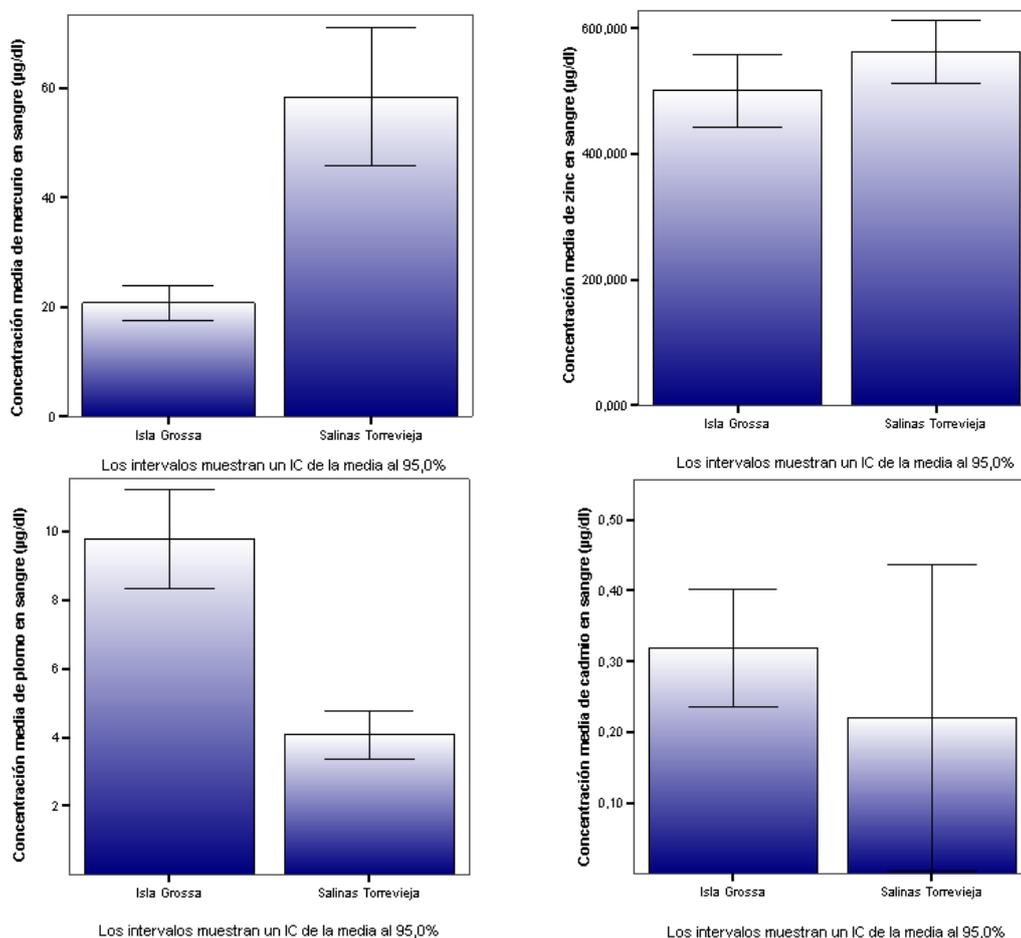


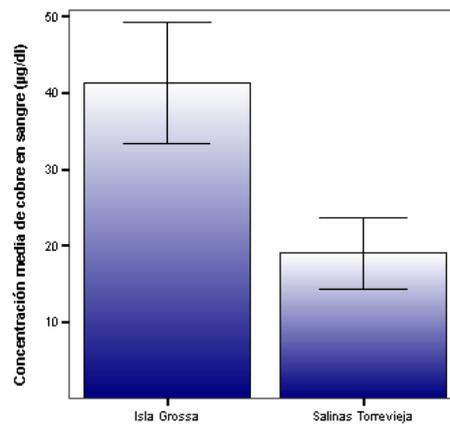
Tabla V.4. Estadísticos descriptivos de la concentración ($\mu\text{g/dl}$) de metales pesados en sangre de pollos de Gaviota de Audouin de las colonias de cría de Isla Grossa ($n = 162$) y Salinas de Torre Vieja ($n= 109$). (\bar{x} =Media; sd =desviación estándar; $nd = no detectado$; * diferencias estadísticamente significativas. $P<0,01$).

Metales	ISLA GROSSA			SALINAS DE TORREVIEJA		
	n	$\bar{X} + sd$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} + sd$	Mediana (mín-máx)
Cadmio *	162	$0,31 \pm 0,54$	0,15 ($nd_{(60)}$ -3,90)	109	$0,12 \pm 0,43$	$nd_{(76)}$ -3,80)
Plomo *	162	$8,89 \pm 6,66$	6,95 (0,49-41,75)	109	$4,12 \pm 3,75$	2,75 ($nd_{(2)}$ -21,14)
Cobre	162	$28,45 \pm 34,62$	16,58 (4,33-173,23)	109	$18,97 \pm 25,51$	16,86 (3,20-74,26)
Zinc *	162	$455,87 \pm 207,12$	414,65 (33,81-1608)	109	$557,17 \pm 264,01$	493,20 (166-1403,06)
Mercurio *	162	$20,99 \pm 21,34$	16,05 (6,40-185,37)	109	$52,29 \pm 48,01$	28,11 (7,03-261,50)

En el gráfico V.5 se representan las concentraciones medias de metales en cada colonia de reproducción. Las barras representan las concentraciones medias. También se representan las barras de error se expresan con un intervalo de confianza del 95%.

Gráfico V.5. Diversos gráficos donde se muestran las concentraciones medias de metales en sangre de cada colonia de reproducción.





Los intervalos muestran un IC de la media al 95,0%

Tal y como ya se comentó anteriormente, este estudio se realizó sobre una colonia reproductiva de Gaviota de Audouin que en primera instancia se encontraba establecida en una isla situada a 2,5 Km de la costa (Isla Grossa, San Javier, Murcia). Dicha colonia cambió su ubicación en el año 2007 a una escombrera situada, a 28 km, anexa a una explotación salinera y a una estación depuradora de aguas residuales (EDAR), en la población de Torre Vieja (Alicante), por razones que desconocemos. La escasez de alimento y la edad de los progenitores podría haber influenciado dicha migración como, se ha comprobado, ha sucedido en otras colonias reproductivas (^{6,5}Genovart *et al.*, 2003). No obstante, por considerarse la población mediterránea de esta especie como una metapoblación, estas colonias sufren inmigraciones y emigraciones de parejas continuamente, que intercambian con otras colonias más o menos lejanas (³⁶Oró, 2004). Este intercambio de animales errantes podría explicar, en algún caso, la existencia de diferencias en las concentraciones de metales entre algunos de los pollos muestreados, por los contaminantes que pudieran haberle transferido las madres al huevo previo a la ovoposición. No obstante, difícilmente podrían tener, en general, mucho más peso sobre las concentraciones encontradas ya que, el tipo de alimento así como la disponibilidad del mismo, son variables que, se ha observado, tienen más relevancia en esta especie (³⁷García-Tarrasón, *et al.*, 2013). De hecho en colonias de Gaviota de Audouin con gran cantidad de parejas en la que se forman subcolonias, se han encontrado diferencias reproductivas (volumen de los huevos, éxito reproductivo, etc.), entre estas, a pesar de encontrarse ubicadas en el mismo área (⁵Genovart *et al.*, 2003).

La Gaviota de Audouin estaba considerada una especie eminentemente piscívora que se alimentaba principalmente de especies pelágicas lejos de la costa (³⁸Witt, 1977), pero recientes observaciones demuestran que se alimenta regularmente a lo largo de la costa sobre la plataforma continental en batimetrías medias de 50 m, donde la actividad pesquera de cerco es más importante (³⁹Becares *et al.*, 2015), (imagen V.2). Su dieta está basada, principalmente, en peces (especialmente clupeidos) y cefalópodos, pero



pequeños mamíferos, artrópodos, crustáceos, aves y materia vegetal forman también parte de ella (³⁸Witt, 1977; ⁴⁰Ruiz *et al.*, 1996; ³⁹Becares *et al.*, 2015). Las colonias de cría en la costa oeste del Mediterráneo se sitúan tradicionalmente en lugares con aguas poco salobres y alta abundancia de clupeidos (⁴¹Witt *et al.*, 1981). No obstante, ya se había advertido que dependían de una forma importante de la actividad pesquera. De hecho en un estudio recientemente publicado (³⁹Becares *et al.*, 2015), en una colonia reproductiva situada en el Delta del Ebro, se comprobó que las gaviotas tienen un comportamiento alimentario muy ligado a la actividad de la flota de pesca de arrastre y de cerco. De esta forma, las gaviotas no van a salir al mar, a alimentarse, en las zonas en donde se encuentra en vigor la moratoria de pesca o durante los fines de semana cuando la flota permanece amarrada. Durante la actividad de pesca de cerco (nocturna), las gaviotas aprovechan la iluminación de los barcos, pescando por ellas mismas o aprovechando los descartes, de hecho es una especie adaptada a la pesca de cupleiformes durante la noche (⁴²Wallace, 1969; ⁴¹Witt *et al.*, 1981). No obstante la sobre-explotación del stock de peces pelágicos de pequeño tamaño así como de sus depredadores como el atún (que durante sus cacerías hacen que estos suban a la superficie), reduce la posibilidad de alimentación de las especies de aves marinas no buceadoras, teniendo estas que recurrir a otros recursos alimenticios (³⁹Becares *et al.*, 2015). Algunos autores aseguran que la Gaviota de Audouin, en la actualidad, obtiene el 75% del alimento que necesita para la cría de sus pollos y su propia alimentación, de los descartes de la pesca de arrastre (⁴³Arcos, 2001; ⁴⁴Oró *et al.*, 2013).

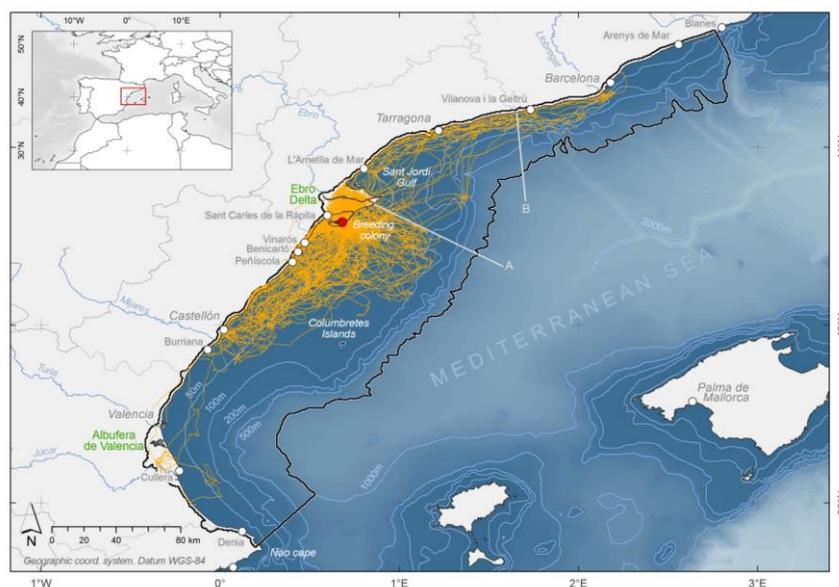


Imagen V.2. Área de campeo (alimentación) de los ejemplares de una colonia reproductiva de Gaviota de Audouin en el Delta del Ebro. (El punto rojo indica la situación de la colonia. Extraída del artículo de ³⁹Bécares *et al.*, 2015).



En la Isla Grosa los nidos se sitúan en un cono volcánico, resto del vulcanismo cuaternario acaecido durante el mioceno, cuyos suelos están constituidos por andesitas, principalmente, y calcarenitas (⁴⁵Enclave Ambiental, 2017). En las salinas de Torre Vieja se sitúan sobre una planicie en donde una empresa extractiva de sal marina arroja los lodos yesíferos procedentes de la explotación, así como toda clase de residuos (escombros, restos de barcas, etc.) (⁴⁶Arroyo y Ramos, 2003).

Las grandes diferencias en cuanto a las concentraciones de plomo observadas, podrían estar influenciadas por la existencia de ciertas cantidades de plomo fundido en lingotes y galena argentífera existentes en los yacimientos arqueológicos fenicios y romanos sumergidos en las proximidades de la isla (imagen V.3) (⁴⁷Mederos y Ruiz, 2004), o por la constitución del propio suelo en el que se asienta la colonia y sus alrededores ya que estas concentraciones son similares a las encontradas en pollos de Búho real ($Pb=8,61\pm 6,76$), cuyos nidos se encuentran en zonas mineras de la Región de Murcia, relativamente próximas a la Isla Grosa (¹⁶Gomez-Ramirez *et al*, 2011). La galena argentífera, cuya fórmula química es PbS , es un sulfuro de plomo que se encuentra tanto en rocas metamórficas como en depósitos volcánicos de sulfuros. La fórmula PbS contiene 86,6% de plomo con pequeñas cantidades de cadmio, antimonio, bismuto, cobre y plata. La importancia de estos pecios como fuente de contaminación ambiental adquiere relevancia si tenemos en cuenta que de un solo barco fenicio de pequeñas dimensiones recuperado en Mazarrón se extrajeron 2.120 Kg de plomo procedente de la posible copelación de galena argentífera (⁴⁷Mederos y Ruiz, 2004).

Otra posible fuente de contaminación de la zona es el emisario submarino que eliminaba las aguas residuales urbanas de La Manga del Mar Menor, frente a la isla Grosa (imagen V.3). Aunque es necesario caracterizar adecuadamente cada emisión procedente de las actividades antrópicas para conocer con exactitud los contaminantes asociados a las mismas, por regla general las aguas procedentes del alcantarillado (agua residual urbana) presentan como contaminantes principales bacterias fecales, compuestos orgánicos (detergentes, plaguicidas, disolventes, aceites y PPCPs) e inorgánicos (N, P, Cu, Pb, Fe, Zn y Mn) (⁴⁸Lledó, 2002). Las aguas residuales urbanas están formadas por aportes de diferentes naturalezas: efluentes domésticos, aguas de drenaje, efluentes de comercios, deposiciones atmosféricas, emisiones procedentes de vehículos (restos de ferodos del sistema de frenado, aceites y combustibles, compuestos de las ruedas, asfaltos, etc.) vertidos directamente al sistema de alcantarillado o arrastrados por el agua de lluvia dentro del sistema (⁴⁹US EPA, 1986). En un estudio realizado por ⁵⁰Karvelas *et al.*, (2003) en aguas de depuradora procedentes de vertidos domésticos y urbanos, se comprobó que dichos vertidos contenían diversas concentraciones de Fe, Mn, Cr, Pb, Ni, Cd y Zn. La



liberación al medio acuático tras la depuración variaba entre un 37% para el Fe y por encima del 77% para el Mn. Respecto al Cr, Pb, Ni, Cd y Zn, el 50 % de los aportes diarios a la depuradora acababa en el fango y el otro 50 % era vertido directamente al medio acuático. En La Manga del Mar Menor, durante el tiempo que la colonia de Gaviota de Audouin se encontraba en Isla Grosa, la red de alcantarillado estaba conectada a seis emisarios que enviaban el efluente sin tratamiento alguno al mar Mediterráneo. Estos estaban situados a lo largo de diversas urbanizaciones y su longitud variaba según las diferentes profundidades de la zona. Todos ellos vertían sus residuos entre diez y doce metros de profundidad, sin ningún procedimiento de tratamiento para su regeneración (⁵¹Morales, 2013).

Por otro lado, la salida del Mar Menor al Mar Mediterráneo por el canal del Estacio, a 2,7 km frente a Isla Grosa, puede suponer un riesgo de contaminación por metales pesados para nuestra población, ya que contaminantes como el Zn y el Pb procedentes de la Sierra Minera Cartagena-La Unión, son encauzados hacia esta laguna marina por diferentes ramblas (⁵²García y Muñoz-Vera, 2015). Son esas mismas ramblas las que vierten también otros contaminantes metálicos procedentes de las explotaciones agrícolas y los suelos que rodean la laguna.

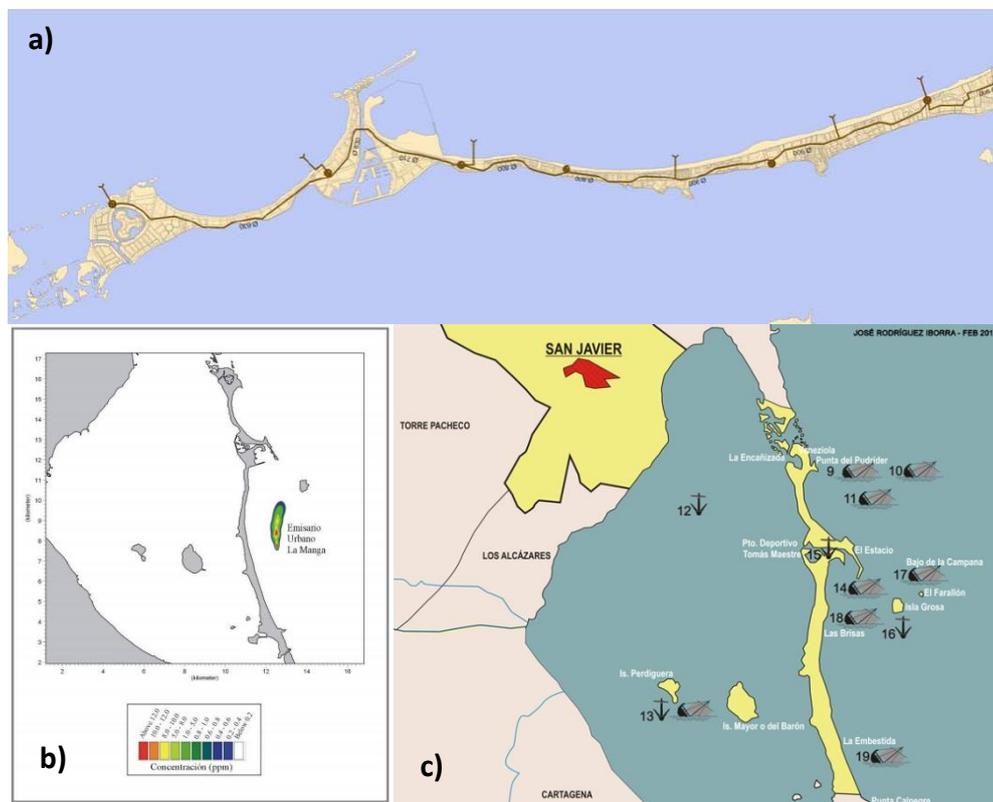


Imagen V.3. Fuentes de contaminación en la zona: a) y b) emisario de aguas residuales de La Manga del Mar Menor (Fuentes: ⁵³García-Ayllon, 2010; Ministerio de Medio Ambiente) y c) localización de los pecios sumergidos en los alrededores de Isla Grosa (Lám. de José Rodríguez Iborra. 2010).



También hemos de tener en cuenta que los fondos marinos de la costa cercana (Bahía de Portmán y Cartagena) están considerados altamente contaminados por cadmio y plomo y ligeramente por mercurio merced a la actividad minera extractiva de zinc y plomo, llevada a cabo desde época romana en las minas de La Unión (Cartagena), cuyos estériles fueron sistemáticamente arrojados al mar desde 1958 a 1990 por la empresa Peñarroya-España (foto V.1). En un estudio realizado por ⁵⁴Benedicto *et al.*, (2008), con mejillón (*Mytilus galloprovincialis*) y salmonete de fango (*Mullus barbatus*) durante el periodo 1991-2005, se constató que las concentraciones de Cd, Zn, Hg, Cu y especialmente Pb, se encontraban por encima de los valores de referencia establecidos para la costa de Murcia (6 veces en el caso del Pb) así como para la costa mediterránea ibérica (17 veces en el caso del Pb) al principio del estudio. En 2005, aunque estas concentraciones habían decrecido, la bahía de Portmán todavía podía considerarse como una de las áreas más contaminadas por Pb y Cd de toda la costa mediterránea española, estando también moderadamente contaminada por Hg. No se observaron diferencias, sin embargo, en las concentraciones de metales en salmonete de fango en 2004 respecto a las concentraciones encontradas en 1990 (⁵⁴Benedicto *et al.*, 2008). Estas concentraciones indicaban un mayor grado de exposición a Hg, Cd y Pb que en otras áreas del litoral mediterráneo del S y SE de España y por tanto, se presuponía, también de la costa de Torrevieja. El consumo de diferentes recursos alimenticios por parte de los componentes de ambas colonias, en definitiva, podría condicionar el diferente mapa de contaminantes encontrado en la sangre de los pollos analizados. Así, se ha comprobado como los organismos vivos acumulan menor cantidad de cadmio en zonas húmedas con alta salinidad (⁵⁵Frazier, 1979), lo que podría avalar también los resultados más bajos observados en los pollos de gaviota nacidos en Torrevieja frente a los de Isla Grosa.



Foto V.1. Vertidos del lavadero Roberto a la Bahía de Portmán procedente de la actividad minera de La Unión. (Autor: desconocido).

Por otro lado, las concentraciones medianas de mercurio en sangre fueron significativamente superiores en los pollos procedentes de Torrevieja que de Isla Grosa



(Torrevieja = 28,11 $\mu\text{g}/\text{dl}$; Isla Grosa = 16,05 $\mu\text{g}/\text{dl}$; $p < 0,01$) al igual que sucedió con las de zinc (Torrevieja = 493,20 $\mu\text{g}/\text{dl}$; Isla Grosa = 414,65 $\mu\text{g}/\text{dl}$; $p < 0,01$). Las concentraciones de mercurio en los pollos de la colonia de Torrevieja fueron similares a las de los pollos de rapaces piscívoras que vivían en áreas fuertemente contaminadas por residuos mineros (³⁰Langner *et al.*, 2012) y bastante superiores a las encontradas en otras especies de gaviotas (*L. argentatus*, *L. pipixcan*, *L. genei*), en áreas consideradas contaminadas y no contaminadas (⁵⁶Burger y Gochfeld, 1997; ⁵⁷Kahle y Becker, 1999; ¹⁷Espín *et al.*, 2015). De hecho, para especies con similares hábitos alimenticios a la Gaviota de Audouin, como el Charrán de Forster (*Sterna forsteri*), las concentraciones de mercurio en sangre no superaron los 33 $\mu\text{g}/\text{dl}$ en pollos y los 166 $\mu\text{g}/\text{dl}$ en adultos en una zona contaminada como es la Bahía de San Francisco en California (^{58,59}Ackerman *et al.*, 2008a; 2008b). Por otro lado, la mortalidad asociada con la contaminación por mercurio suele ocurrir durante la primera semana desde el nacimiento, lo que indica que los efectos del mercurio acumulado en el huevo pueden ser particularmente evidentes durante los primeros días post-nacimiento (⁶⁰Ackerman *et al.*, 2009). Después del nacimiento, si los animales no se exponen a altos niveles de mercurio en la dieta, las concentraciones de mercurio declinan rápidamente con la edad y diluyen su concentración en el organismo a través del crecimiento y la formación y desarrollo de las plumas (⁶¹Monteiro y Furness, 2001). Por tanto, nuestros resultados podrían indicar una exposición a este contaminante después del nacimiento en las gaviotas de Torrevieja debido a la presa aportada por los progenitores.

Al igual que sucede con el Cd, Pb y Zn, las diferencias en los niveles de Hg entre las colonias pueden deberse a una diferente explotación de los recursos alimenticios por parte de las gaviotas en ambas áreas de nidificación. De hecho, en septiembre de 2005 se inauguró uno de los mayores polígonos de maricultura del sureste de España dedicado a la cría y engorde de dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y corvina (*Sciaena umbra*). Situada en la localidad de San Pedro del Pinatar (Murcia), a 9,5 km de la Isla Grosa y a 19 km. de Torrevieja, situada entre ambas localizaciones, no estaba disponible como posible fuente de alimentación para las gaviotas hasta la temporada reproductiva de 2006, momento a partir del cual supuso otra fuente de obtención de alimento para la especie junto con otra instalación ubicada en Guardamar del Segura (Alicante) situada a 16 km al norte de la colonia de Torrevieja (foto V.2). De hecho, en un estudio realizado sobre el impacto de las aves marinas sobre este tipo de instalaciones en la costa de Alicante (realizado entre otras, en las instalaciones de Guardamar del Segura), se comprobó que la Gaviota de Audouin aparecía en las instalaciones para alimentarse en el mes de abril y su número permanecía constante hasta el mes de agosto, periodo que coincide con la vuelta desde sus cuarteles de invierno hasta finalizar la temporada de cría



(⁶²Becares *et al.*, 2016). Su mayor presencia tenía lugar en el mes de septiembre, cuando los pollos nacidos ese año ya tienen capacidad de volar, dejando de visitar las instalaciones en el mes de noviembre (fecha en la que se han marchado a los cuarteles de invierno) (⁶³Álamo, 2009).



Foto V.2. Gaviota de audouin en una piscifactoría. (⁶³Álamo, 2009).

Algunos estudios han puesto de manifiesto la importancia de las granjas de acuicultura como fuente de contaminación por metales en el medio marino. En un estudio realizado sobre el impacto de las granjas de maricultura sobre el ecosistema marino, se comprobó que el pienso del cual se alimentaban los peces allí albergados (*Sparus aurata* y *Dicentrarchus labrax*) contenía metales pesados en su composición, algunos como parte fundamental de su composición y otros sobrevenidos por la contaminación de las materias primas (Cd=0,24±0,02 µg/g; Cu=8,48±0,33 µg/g; Pb=0,15±0,02 µg/g; Zn=83,02±0,77 µg/g; ⁶⁴Navarete-Mier *et al.*, 2010). En otro estudio se puso de manifiesto que peces de maricultura alimentados con pienso con concentraciones de mercurio de 0,038 µg/g peso seco, presentaban mayores concentraciones en músculo de este metal que peces carnívoros salvajes de la misma zona (⁶⁵Qiu y Wan, 2016).

Por otro lado, también se ha observado una mayor exposición a mercurio de los animales que viven en lagunas salinas sometidas a explotación, como es el caso de las que se encuentran junto a la colonia reproductiva de Torre Vieja, acumulando los peces albergados en ellas mayor concentración de mercurio que aquellos que viven en aguas abiertas o estuarios (⁶⁶Eagles-Smith y Ackerman, 2014). De hecho, se ha observado que las concentraciones de mercurio en sangre de Gaviotas californianas (*Larus californicus*) adultas capturadas durante la época de puesta en una laguna salada contaminada por actividades urbanas e industriales en Norteamérica, eran de 65 µg/dl frente a los 26 µg/dl encontrados en la misma especie que anidaba en un lago alejado de ese tipo de actividades (⁶⁷Conover *et al.*, 2009). Esta podría ser, en definitiva, otra fuente de exposición a este contaminante, cuando las aves de Torre Vieja capturan los peces que



puedan quedar atrapados en las charcas de concentración de sal (foto V.3).



Foto V.3. Gaviotas de audouin alimentándose en uno de los canales de distribución de agua entre las diferentes balsas de las salinas de Torrevieja.

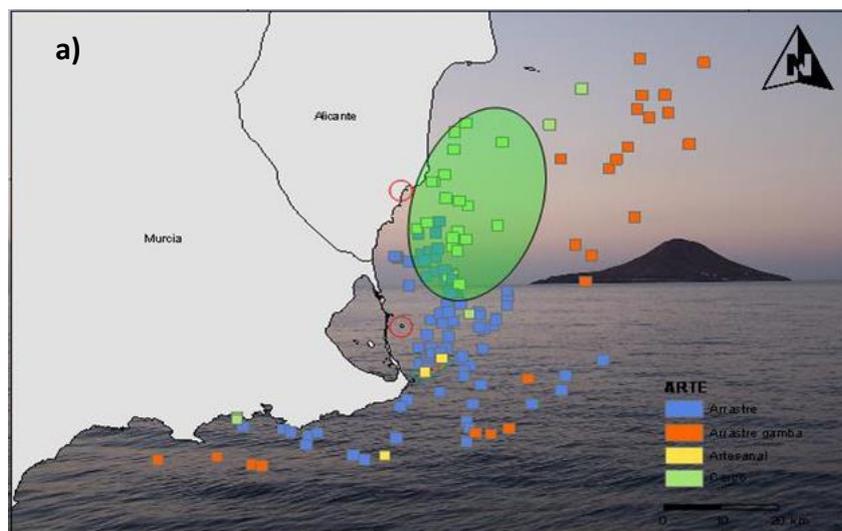
En relación a los metales esenciales, zinc y cobre, aunque para el metal cobre no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, las diferencias podrían estar determinadas por un mejor o peor estado nutricional de los pollos en cada colonia reproductiva. ⁶⁸Blanco *et al.*, (2004) comprobaron la existencia de una correlación positiva entre la concentración media de zinc en sangre y el estado nutricional de pollos de Milano negro en un área contaminada por la incineración de RSU (residuos sólidos urbanos). Del mismo modo encontró una correlación negativa entre la concentración media de cobre en sangre y el estado nutricional, hecho que ha sido relacionado por otros autores con largos periodos de ayuno (⁶⁹Debacker *et al.*, 2001). Este hecho podría avalar la posibilidad de que los pollos en Isla Grosa no estuviesen alimentados adecuadamente lo que podría haber motivado el traslado de la colonia hacia una zona donde la diversidad, abundancia y disponibilidad de los recursos alimenticios fuese mayor.

También se ha relacionado de forma negativa la inmunidad mediada por células con las concentraciones de cobre en sangre en pollos de cigüeña blanca, lo que significa que aquellos pollos, en zonas contaminadas por metales que presentan mayores concentraciones de cobre en sangre, no solo tendrán peor condición corporal sino también peor respuesta inmune (⁸Baos *et al.*, 2006). En definitiva, el mejor estado nutricional de los pollos de gaviota de la colonia de Torrevieja, no parece ser suficiente motivo para explicar las grandes diferencias en los niveles encontrados de zinc en la sangre de las gaviotas de ambas zonas de reproducción, lo que podría implicar la existencia de un foco de contaminación de este metal en el área de campeo de las Gaviotas de Torrevieja. No obstante hay que tener en cuenta que en algunos casos en los que la contaminación por metales es elevada, se pueden detectar mayores concentraciones de los metales denominados oligoelementos (Zn y Cu), al utilizar estos



las mismas rutas metabólicas que aquellos metales considerados contaminantes (⁷³Wenzel *et al.*, 1996; ²⁵Blanco *et al.*, 2003).

La peor condición física de los pollos de Gaviota de Audouin de Isla Grosa se podría deber a que la flota pesquera de cerco durante los años 2005 y 2006 faenaba principalmente en la costa alicantina (imagen V.4), mientras en la costa murciana la actividad principal era la pesca de arrastre la cual estuvo inactiva durante dos meses en pleno periodo reproductivo (imagen V.4). En un estudio sobre la asociación de las aves marinas con las pesquerías comerciales en la Región de Murcia se comprobó que la Gaviota de Audouin prefiere capturar su alimento aprovechando el momento en el que los pescadores “cercan” a los peces (en el arte de cerco), que al consumo de descartes procedentes de la flota de arrastre, al contrario que sucede en otras colonias del mediterráneo (⁷⁰03/Nat/E/00006 Proyecto Life; ³⁹Becares *et al.*, 2015). Una vez la colonia se estableciera en las salinas de Torrevieja, tendría mejor acceso a las granjas de maricultura y a la flota de cerco, además de tener una posible área de pesca en las balsas y canales de las salinas donde las aguas son someras.



b)

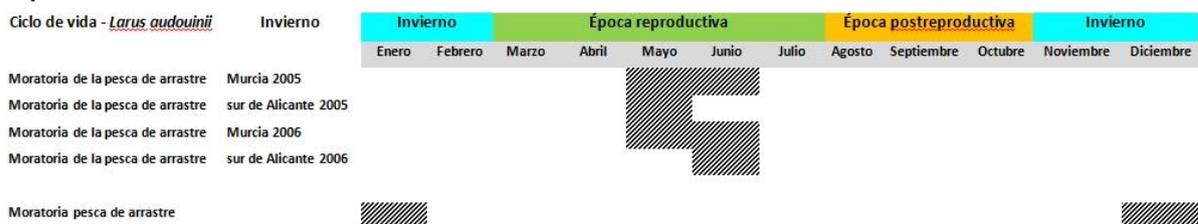


Imagen V.4. a) Actividad pesquera según el tipo de arte empleado y b) moratoria para el arrastre durante los años 2005 y 2006 en las costas del Sur de Alicante y Murcia (⁷¹Sallent *et al.*, 2006). La zona señalada en verde es el área de pesca de cerco. Los círculos rojos señalan la localización de las colonias.



V.2.3. ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES.

Las correlaciones entre metales son a menudo debidas a la existencia de rutas metabólicas comunes en las que intervienen determinadas proteínas de unión como las metalotioneínas (⁷²Roesijadi, 1992; ⁷³Wenzel *et al.*, 1996; ²⁵Blanco *et al.*, 2003). Sin embargo es escasa la bibliografía respecto a las posibles relaciones entre distintos metales en sangre de aves (²⁵Blanco *et al.*, 2003), aunque son más frecuentes los estudios que las realizan analizando órganos internos (⁷³Wenzel *et al.*, 1996; ⁶⁹Debacker *et al.*, 2001; ⁷⁴Ek *et al.*, 2004).

Para comprobar la correlación existente entre las concentraciones de metales en sangre, se analizaron ambas colonias por separado ya que, como se comprobó en el apartado anterior, existían diferencias significativas entre ambas colonias. Para ello se calculó el coeficiente *Rho* de Spearman, pudiendo comparar los metales entre sí. En las tablas V.5 y V.6 se presentan los resultados en los que se encontraron correlaciones significativas.

V.2.3.1 ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES EN ISLA GROSA.

La correlación entre metales esenciales y no esenciales puede indicar similares u opuestos patrones de acumulación y la existencia de mecanismos de detoxificación (⁶⁹Debacker *et al.*, 2001; ²⁵Blanco *et al.*, 2003).

Tabla V.5. Correlación de Spearman entre metales en Isla Grosa.

	PLOMO	COBRE	MERCURIO
ZINC		-0,209**	-0,243**
CADMIO	0,304**	0,187*	0,262**
PLOMO		0,323**	

**La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

En la colonia de cría de Isla Grosa se observó una correlación negativa significativa, aunque débil, entre las concentraciones de los dos metales esenciales (zinc-cobre: $Rho = -0,209$, $p = 0,008$) (tabla V.5). Un hecho similar ya fue observado por ⁶⁸Blanco *et al.*, (2004) cuando se estudiaba la relación entre estos dos metales esenciales y la condición física (estado nutricional) de pollos de milano negro en zonas contaminadas. Esta correlación negativa puede venir determinada por la mayor afinidad que presenta el cobre a los grupos sulfidrilo (-SH) de las metalotioneínas lo que desplazaría al zinc siendo este eliminado más fácilmente o por la excreción de zinc en periodos largos de ayuno (⁶⁹Debacker *et al.*, 2001). En organismos superiores, el zinc es un antagonista del cobre y potencia los efectos de la deficiencia nutricional de cobre en ratas y pollitos



(⁷⁵Eisler, 1988). El zinc añadido a un medio acuático, disminuye la acumulación de cobre en los tejidos de peces y el cobre añadido al mismo medio dificulta la absorción del zinc (⁷⁶Hilmy *et al.*, 1987).

Por otro lado, también se encontró una correlación negativa entre las concentraciones de zinc y mercurio ($Rho=-0,243$, $p=0,002$) (tabla V.5). Así como se han encontrado mecanismos mediante los cuales metales esenciales como el zinc y contaminantes metálicos como el plomo y el cadmio interactúan compitiendo entre ellos por su unión a hemoenzimas o a metalotioneínas (⁷⁷Goyer, 1997), no se ha encontrado ningún mecanismo de interacción entre el mercurio y el zinc. Es posible por tanto que la correlación encontrada este más relacionada con la relación de las gaviotas de Isla Grosa con la explotación de los recursos alimenticios.

El cobre se correlacionó positivamente con cadmio y con plomo (cobre-cadmio: $Rho=0,187$ $p=0,017$; cobre-plomo: $Rho=0,323$, $p<0,01$) (tabla V.5). Esto podría estar determinado por la capacidad que tienen dichos metales de inducir el aumento de proteínas de unión a otros metales como son las protoporfirinas y metalotioneínas. (⁷⁸Elliot *et al.*, 1992; ⁷⁹Stewart *et al.*, 1996).

Las concentraciones de plomo y cadmio también se correlacionaron positivamente de forma significativa (plomo-cadmio: $Rho=0,304$, $p<0,001$), lo que podría explicarse por un patrón similar de exposición. De hecho si la fuente de contaminación es antropogénica (residuos de la minería, vertidos de aguas residuales u otra fuente de contaminación en la que tanto el cadmio como el plomo estén presentes), sería lógico pensar que las concentraciones de estos en sangre están correlacionadas positivamente ya que ambos metales no compiten entre sí por su unión a metalotioneínas o hemoenzimas (Gochfeld, 1997; Blanco *et al.*, 2003).

V.2.3.2 ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES EN LAS SALINAS DE TORREVIEJA.

En los pollos de la colonia de las Salinas de Torrevieja se observaron las siguientes correlaciones entre las concentraciones de metales (tabla V.6).

Tabla V.6. Correlación de Spearman entre metales en Torrevieja.

	CADMIO	COBRE	MERCURIO
ZINC	-0,323**		0,623**
CADMIO		0,395**	-0,425**
PLOMO		0,482**	0,208*

**La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

*La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).



Al igual que sucedió en la Isla Grosa, se encontró una correlación positiva entre las concentraciones de cobre y las concentraciones de cadmio y plomo (cobre-cadmio: $Rho=0,395$ $p<0,001$; cobre-plomo: $Rho=0,482$, $p<0,001$).

En este caso no se encontró correlación significativa entre las concentraciones de los metales esenciales zinc y cobre, aunque si se encontró una correlación positiva entre las concentraciones de cadmio y cobre, como ya hemos señalado en el párrafo anterior y negativa entre las concentraciones de cadmio y zinc ($Rho=-0,323$, $p=0,001$). Un aumento en los niveles de cadmio tiene un mayor efecto sobre polladas en peor condición física (los cuales también tienen menores niveles de zinc y mayores de cobre) que sobre polladas en buen estado físico. Esto también podría indicar que el zinc juega un papel importante en la protección de la absorción de cadmio (⁶⁸Blanco *et al.*, 2004).

Las concentraciones de mercurio además de correlacionarse negativamente con las de cadmio (mercurio-cadmio: $Rho=0,425$, $p<0,001$), también se correlacionaron positivamente con las concentraciones de zinc y con las concentraciones de plomo (mercurio-zinc: $Rho=0,623$, $p<0,001$; mercurio-plomo: $Rho=0,208$, $p=0,030$). La relación del zinc con el mercurio puede tener que ver con la capacidad de desorción de los metales presentes en los suelos contaminados hacia la columna de agua conforme aumenta la salinidad de esta (⁸⁰Du Laing *et al.*, 2009), lo que favorecería una exposición conjunta de los diferentes metales en las aves. Por otro lado, aunque se comprobó una correlación entre las concentraciones de mercurio y plomo, esta no fue significativa.

V.2.4. RESULTADO POR SEXOS DE LAS AVES MUESTREADAS.

Para estudiar si existían diferencias en la concentración de metales en sangre entre los machos y las hembras, se estudiaron un total de 85 pollos de los años 2002, 2003 y 2005. Para ello se procedió a realizar pruebas no paramétricas (U de Mann-Whitney), y se comprobó que existían diferencias significativas entre machos y hembras solo para la concentración de zinc en sangre ($p=0,034$), siendo mayor dicha concentración en hembras que en machos (machos=383,54 mg/dl vs hembras=464,61 mg/dl) (tabla V.7).

Cabría esperar una mayor concentración de contaminantes en machos que en hembras, ya que esta especie presenta dimorfismo sexual, siendo los pollos machos de gaviota de mayor tamaño que las hembras cuando comienzan a emplumarse (⁸¹Oró, 1998), por lo que necesitan consumir mayor cantidad de alimento y por lo tanto la exposición alimenticia debe de ser mayor. No obstante, son por esta razón también más sensibles a la escasez de alimento (⁸²Genovart *et al.*, 2003). Este hecho supondría que en los machos



pudiéramos advertir una mayor concentración de cobre y menor de zinc que en las hembras (⁶⁸Blanco *et al.*, 2004).

En un estudio realizado en Araos comunes (*Uria aalge*) que se encontraban varados en una playa desnutridos, se comprobó como en los machos se encontraban mayores uniones de zinc a metalotioneínas, a nivel hepático, que en hembras (⁶⁹Debacker, 2001), con lo que las posibilidades de que este elemento se encuentre en sangre circulante, en vez de estar unido a estas proteínas a nivel tisular, debería de ser mayor en hembras que en machos, lo que explicaría nuestros resultados. En otro estudio realizado en diferentes especies de aves acuáticas las hembras presentaban mayores concentraciones de zinc en hígado que los machos (⁸³Taggart *et al.*, 2006), sin embargo tras analizar la sangre de 11 especies de aves que se alimentaban en una zona contaminada por la rotura de una balsa de residuos mineros no se encontró relación entre el sexo y la concentración de metales en sangre (³⁵Benito *et al.*, 1999).

Tabla V.7. Estadísticos descriptivos de la concentración ($\mu\text{g}/\text{dl}$) de metales pesados en sangre de pollos de Gaviota de audouin por sexos. Se muestran con asterisco aquellas relaciones con significación estadística. (Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo), nd=no detectado).

	MACHOS (n=57)	HEMBRAS (n=37)
Zinc*	383,74 \pm 217,46	464,61 \pm 194,38
	344,00 (33,81-1608,00)	419,69 (223,20-995,90)
Cadmio	0,21 \pm 0,25	0,29 \pm 0,38
	0,16 (nd ₍₁₆₎ -1,15)	0,20 (nd ₍₈₎ -1,81)
Plomo	7,62 \pm 3,95	7,58 \pm 3,79
	6,73 (1,91-22,45)	6,83 (2,46-18,11)
Cobre	34,33 \pm 41,04	31,75 \pm 45,80
	20,82 (nd ₍₂₃₎ -173,23)	8,55 (nd ₍₁₇₎ -173,01)
Mercurio	20,90 \pm 9,94	28,53 \pm 33,78
	19,10 (7,73-55,70)	19,50 (8,57-185,37)

* Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$

V.2.5. DIFERENCIAS ESPACIO - TEMPORALES EN LOS NIVELES DE METALES EN SANGRE.

En las tablas V.8 y V.9 se muestran los estadísticos descriptivos para cada año. Como ya se ha comentado, en los años 2002 a 2006 el muestreo se realizó en la Isla Grosa y los años 2008 a 2011 en las Salinas de Torrevieja. Para el caso del metal cobre no existen datos para el año 2002 por no haberse analizado dicho metal ese año, con lo que se ha excluido para los cálculos estadísticos, como ya se comentó anteriormente.



Tabla V.8. Estadísticos descriptivos de la concentración ($\mu\text{g/dl}$) de metales pesados en sangre de pollos de Gaviota de Audouin en la Colonia de Isla Grosa para cada año de muestreo. (Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo, nd=no detectado).

CONCENTRACIÓN DE METALES EN SANGRE EN ISLA GROSA				
	Año	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Zinc	2002	29	593,49 \pm 271,49	586,70 (86,23-1608)
	2003	44	287,55 \pm 69,80	297,39 (33,81-432,09)
	2004	40	406,69 \pm 104,56	404,01 (217,71-794,95)
	2005	34	480,80 \pm 143,65	485,82 (243,01-870,84)
	2006	21	659,13 \pm 207,46	616,18 (277,33-1021,86)
Cadmio	2002	29	0,39 \pm 0,11	0,24 (0,02-1,22)
	2003	44	0,15 \pm 0,12	0,15 (nd ₍₁₂₎ -0,46)
	2004	40	0,48 \pm 0,67	0,11 (nd ₍₁₆₎ -3,03)
	2005	34	0,45 \pm 0,86	0,15 (nd ₍₁₅₎ -3,90)
	2006	21	0,021 \pm 0,049	nd (nd ₍₁₇₎ -0,19)
Plomo	2002	29	6,65 \pm 3,70	5,36 (1,91-18,67)
	2003	44	7,61 \pm 3,14	7,37 (2,99-17,65)
	2004	40	13,43 \pm 9,36	10,26 (1,59-41,75)
	2005	34	9,88 \pm 7,57	7,15 (3,62-40,93)
	2006	21	5,11 \pm 2,22	5,34 (0,49-9,07)
Cobre	2002	29	--	---
	2003	44	69,26 \pm 48,03	65,44 (nd ₍₁₁₎ -173,23)
	2004	40	26,98 \pm 17,08	22,21 (10,45-97,86)
	2005	34	23,20 \pm 10,95	23,18 (8,30-55,28)
	2006	21	9,10 \pm 4,60	7,47 (4,33-22,46)
Mercurio	2002	29	24,41 \pm 13,20	20,50 (10,50-68,10)
	2003	44	26,64 \pm 17,24	24,80 (11,40-125,80)
	2004	40	20,97 \pm 24,55	15,60 (10,60-163,60)
	2005	34	16,48 \pm 31,04	10,07 (7,64-185,37)
	2006	21	11,60 \pm 2,95	11,60 (6,40-18,50)



Tabla V.9. Estadísticos descriptivos de la concentración ($\mu\text{g/dl}$) de metales pesados en sangre de pollos de Gaviota de Audouin en la Colonia de las Salinas de Torre Vieja para cada año de muestreo. (Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo, nd=no detectado).

CONCENTRACIÓN DE METALES EN SANGRE EN TORREVIEJA				
	Año	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Zinc	2008	24	491,44 \pm 69,40	492,64 (338-621)
	2009	30	648,65 \pm 267,98	618,09 (166,02-1403,067)
	2010	30	736,51 \pm 314,94	617,24 (319,60-1393,26)
	2011	29	339,43 \pm 75,48	324,01 (211,56-525,63)
Cadmio	2008	24	0,07 \pm 0,05	0,08 (nd ₍₆₎ -0,19)
	2009	30	0,02 \pm 0,07	nd (nd ₍₂₇₎ -0,31)
	2010	30	0,01 \pm 0,05	nd (nd ⁽²⁸⁾ -0,28)
	2011	29	0,37 \pm 0,81	nd (nd ₍₁₅₎ -3,80)
Plomo	2008	24	6,88 \pm 4,70	5,59 (2,65-21,14)
	2009	30	3,97 \pm 2,26	3,23 (1,01-9,43)
	2010	30	4,16 \pm 4,33	2,24 (1,34-18,20)
	2011	29	1,86 \pm 1,07	1,78 (nd ₍₂₎ -4,77)
Cobre	2008	24	26,45 \pm 11,52	24,90 (16,20-74,36)
	2009	30	16,33 \pm 11,94	13,76 (7,96-68,14)
	2010	30	12,81 \pm 11,85	9,67 (3,20-68,23)
	2011	29	13,23 \pm 6,27	14,09 (3,60-27,29)
Mercurio	2008	24	21,49 \pm 7,86	20,82 (14,52-54,42)
	2009	30	74,21 \pm 39,70	66,12 (23,49-204,36)
	2010	30	94,52 \pm 52,66	82,15 (22,00-261,50)
	2011	29	13,75 \pm 3,17	14,04 (7,03-20,52)

Mediante la prueba de Kruskal-Wallis, se comprobó que existían diferencias en las concentraciones en sangre de los diferentes metales entre los diferentes años. Posteriormente, y con el fin de encontrar las diferencias entre años realizamos el test de Mann-Whitney comparando los años por parejas en cada una de las localidades investigadas.

Así se pudo comprobar como las concentraciones medias de zinc se situaron, en los años 2006 en Isla Grosa y 2009 y 2010 en Torre Vieja, en niveles por encima de los encontrados por algunos autores en aves procedentes de áreas contaminadas (²⁸Rattner *et al.*, 2008; ²⁹Gómez-Ramírez, 2011; ⁸⁴Van der Merwe *et al.*, 2011). No obstante, no se llegaron a



encontrar en ningún año concentraciones medias propias de animales intoxicados (Zdziarski *et al.*, 2004; ²¹Carpenter *et al.*, 2004).

El cobre, el otro metal esencial, presentó sus mayores concentraciones medias en 2003 (mediana= 65,44µg/dl). Además, los niveles de Cu para ese año fueron superiores a los encontrados en pollos de búho real nacidos entre 2003-2007 en la mencionada anteriormente “Sierra Minera Cartagena-La Unión” (²⁹Gómez-Ramírez, 2011). También fueron superiores a los encontrados en Cigüeñas blancas (*Ciconia ciconia*) y Milanos negros de zonas contaminadas en España (⁶⁸Blanco *et al.*, 2003; ⁸Baos *et al.*, 2006).

Los años 2002 y 2011 fueron los años que presentaron las mayores concentraciones medias de cadmio. Nunca llegaron a alcanzar las concentraciones que causan efectos subletales en aves (⁸⁵Swiergosz-Kowaleska, 2000), ni los encontrados en pollos de otras gaviotas menos piscívoras en áreas contaminadas (¹⁵Burger y Gochfeld, 1997). No obstante, los niveles se asemejaron a los encontrados en pollos de rapaces piscívoras de zonas contaminadas (³⁰Langner *et al.*, 2012) y en pollos de Aguililla calzada (*Hieraaetus pennatus*), Azor (*Acipiter gentilis*) y Busardo ratonero (*Buteo buteo*) de la región de Murcia procedentes de áreas no contaminadas (⁸⁶Martínez López *et al.*, 2005).

En cuanto al plomo, la concentración media más elevada se encontró en el año 2004 (mediana= 10,26µg/dl) Esta concentración fue superior a la encontrada en pollos de Cigüeña blanca (³³Baos *et al.*, 2006) y fue similar a las de pollos de Gaviota argétea, ambas de zonas contaminadas (¹⁵Burger y Gochfeld, 1997). También fue similar, aunque un poco menor, a las encontradas en Garza real y Garceta común en la región de Murcia (⁷García-fernández, 1995). Es importante destacar que la concentración de plomo en 2004 superó a las encontradas en rapaces que se alimentan de especies de caza menor como el Búho real (¹⁶Gómez-Ramírez *et al.*, 2011; ⁸⁷Gangoso *et al.*, 2009) las cuales, se entiende, tienen mayor exposición a este metal al alimentarse principalmente de conejos que pueden contener perdigones de plomo en su interior.

En lo que se refiere al mercurio, 2009 y 2010 fueron los años en los que se hallaron mayores concentraciones medias de mercurio en sangre. Los niveles en esos dos años (2009: mediana= 66,12 µg/dl; 2010: mediana= 82,15 µg/dl), no llegaron a 100 µg/dl, NOAEL para adultos de Colimbo grande (⁸⁸Evers *et al.*, 2004). Aunque las altas concentraciones de mercurio en aves adultas está relacionada con la pérdida de productividad a causa de mortalidad embrionaria y perinatal (⁸⁹Evers y Reaman, 2001), en estos años no se llegaron a sobrepasar los niveles considerados sin efecto sobre el desarrollo o la supervivencia de pollos de Colimbo grande obtenidos durante un ensayo experimental (330 µg/dl) (⁹⁰Kenow *et al.*, 2002). Esta mayor resistencia de los pollos



durante el desarrollo se debe a la capacidad de estos de desprenderse del metil-mercurio durante la formación de la pluma. Los animales pierden dicha capacidad una vez han completado el plumaje y comienzan a volar, por tanto estos altos niveles en los pollos pueden reflejar aún más altos niveles en los parentales. De hecho se ha comprobado como en ciertas especies de aves piscívoras como el Águila pescadora, los niveles de mercurio en las plumas de los padres pueden llegar a ser hasta cuatro veces los encontrados en sus pollos (⁹¹Cahill *et al.*, 1998).

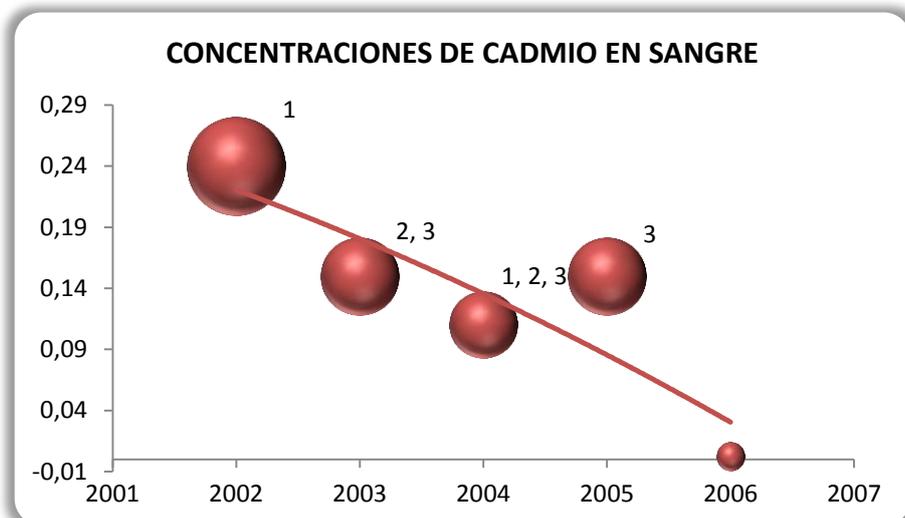
Los gráficos V.6 a V.15, representan las medias de la concentración de cada uno de los metales para cada año.

V.2.5.1 ESTUDIO ESPACIO-TEMPORAL EN LA COLONIA DE ISLA GROSA.

Comparando las concentraciones medianas de metales entre los diferentes años, mediante la realización de test U de Mann-Whitney, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$). No obstante, se detectaron similitudes entre las concentraciones de plomo para los años 2002-2003, 2002-2006, 2003-2005. Para el metal cadmio las similitudes encontradas fueron entre los años 2002-2004, 2003-2004, 2003-2005 y 2004-2005. En el caso del cobre solo se encontraron concentraciones similares entre los años 2004-2005. Para el mercurio estas similitudes fueron encontradas entre los años 2002-2003, 2002-2006 y 2005-2006.

Como se puede comprobar, el metal en el que se observaron más similitudes fue el cadmio, cuya concentración en sangre, a la vista de los resultados, fue más estable a lo largo de los años en Isla Grosa. Los valores más altos se encontraron en los años 2004 y 2005, disminuyendo drásticamente hacia 2006.

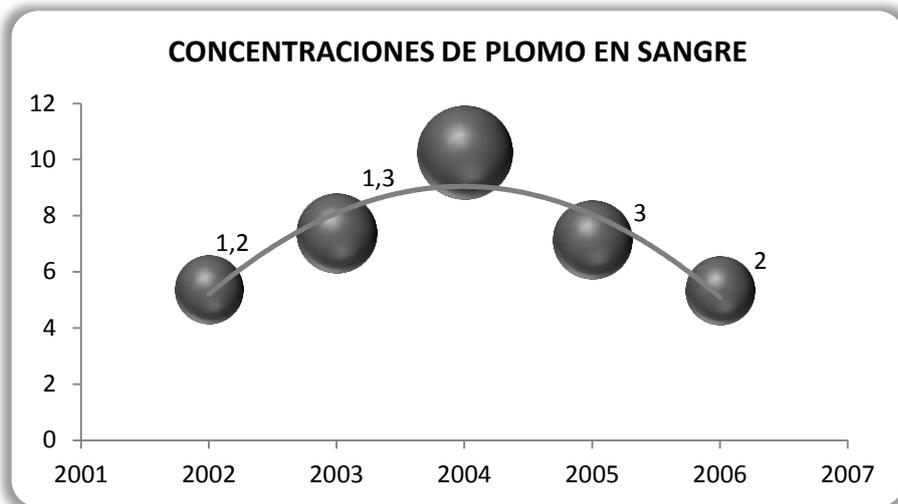
Gráfico V.6. Comparación de concentraciones de cadmio por años en Isla Grosa (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron las mismas concentraciones. Se muestra la línea de tendencia.





El plomo fue el segundo metal con mayor cantidad de similitudes. Su comportamiento fue similar al cadmio, con mayores concentraciones en 2004 y 2005 disminuyendo estas en 2006.

Gráfico V.7. Comparación de concentraciones de plomo por años en Isla Grosa (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron las mismas concentraciones. Se muestra la línea de tendencia.



En cuanto al comportamiento de los metales esenciales, zinc y cobre, no presentan muchas similitudes entre años pero ambos siguen una evolución inversa con el paso de los años, conforme aumento la concentración de zinc disminuyó la de cobre.

Gráfico V.8. Comparación de concentraciones de zinc por años en Isla Grosa (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron las mismas concentraciones. Se muestra la línea de tendencia.

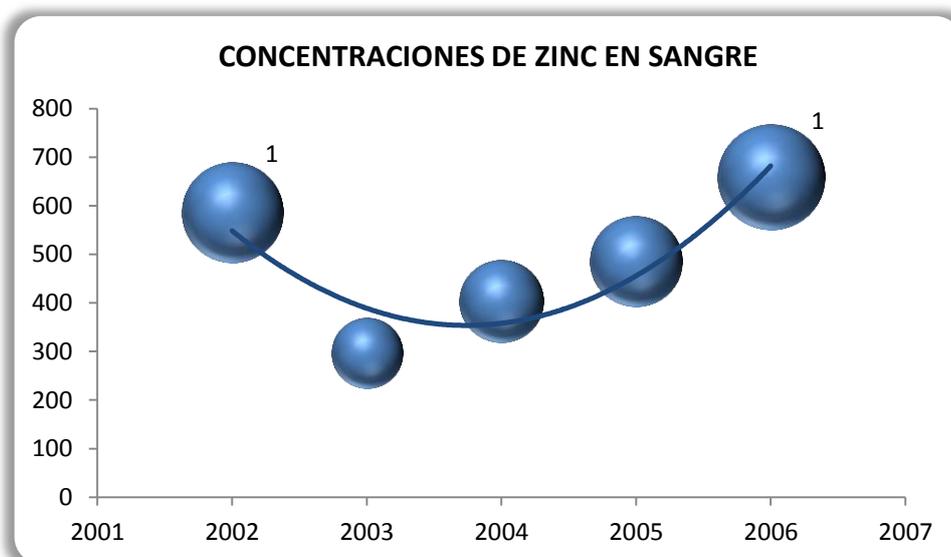
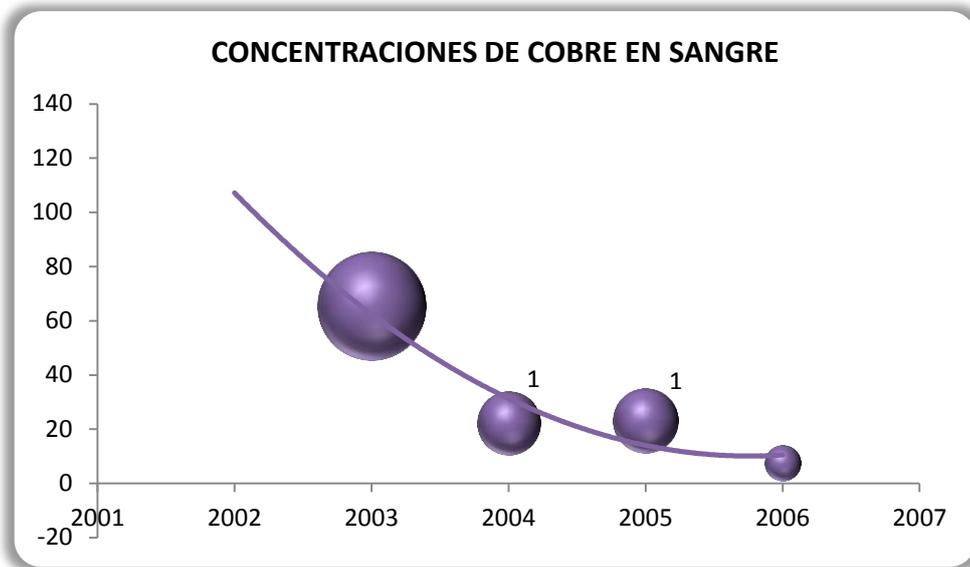


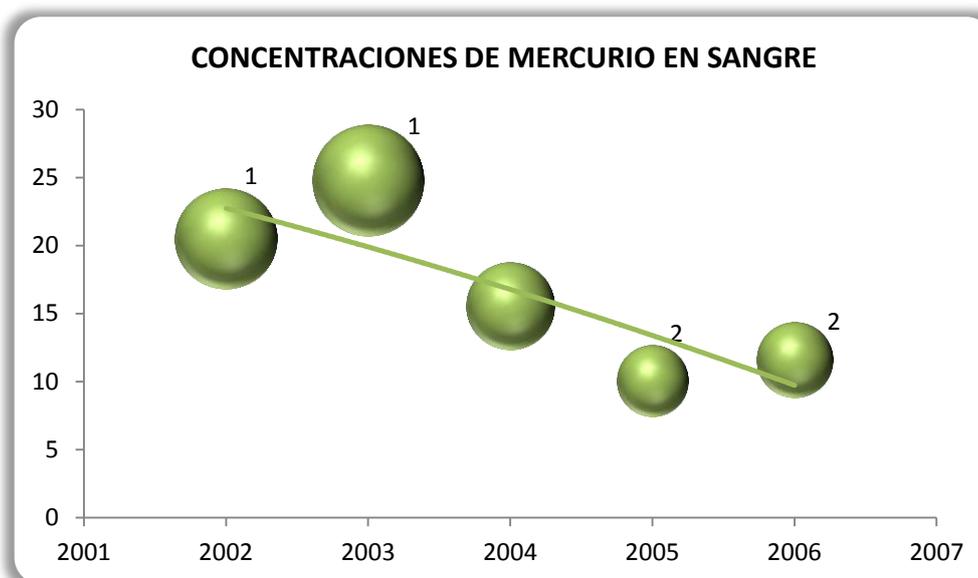


Gráfico V.9. Comparación de concentraciones de cobre por años en Isla Grosa (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron las mismas concentraciones. El año 2002 no se representa al no haberse analizado este metal. Se muestra la línea de tendencia.



El mercurio presentó niveles más altos en los primeros años del estudio en Isla Grosa 2002 y 2003 que tendieron a la baja en los últimos años de estancia de las gaviotas en dicha isla (durante los años 2005 y 2006).

Gráfico V.10. Comparación de concentraciones de mercurio por años en Isla Grosa (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron las mismas concentraciones. El año 2002 no se representa al no haberse analizado este metal. Se muestra la línea de tendencia.



A la vista de los resultados todo parece apuntar hacia una disminución de la exposición a contaminantes conforme avanzaron los años, bien por una disminución de las emisiones, o por un cambio en los hábitos alimenticios de las gaviotas. Este efecto no se observó sin



embargo en el plomo que permaneció prácticamente invariable aunque experimentó un aumento significativo hacia la mitad del estudio para volver a los niveles de origen y el zinc que se comportó de forma inversa al plomo.

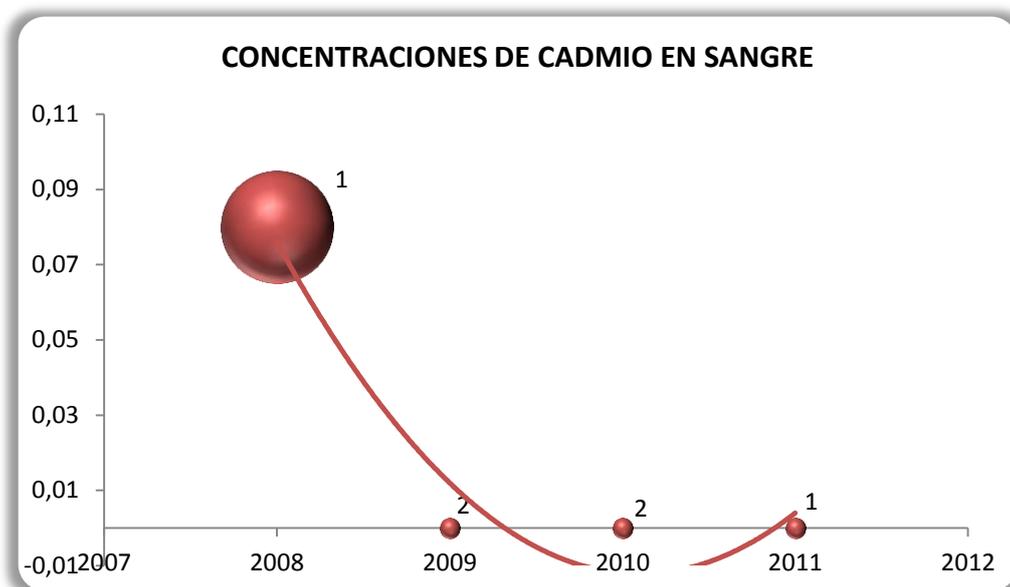
V.2.5.2 ESTUDIO ESPACIO-TEMPORAL EN LA COLONIA DE LAS SALINAS DE TORREVIEJA.

Al igual que sucedió en Isla Grosa, en este estudio hemos encontrado que las concentraciones de metales son diferentes para cada año excepto para la concentración de cadmio entre los años 2008 y 2011, zinc, cadmio, plomo y mercurio entre los años 2009 y 2010 y cobre entre los años 2009 y 2011 y entre los años 2010 y 2011.

En esta colonia observamos que son cadmio y cobre los que muestran mayor número de similitudes entre años. El mayor número de similitudes se produjeron en los años centrales de nuestro estudio (2009 y 2010), en los que las concentraciones de metales en sangre fueron similares excepto para el metal cobre.

El cadmio presentó una tendencia a disminuir con los años del estudio.

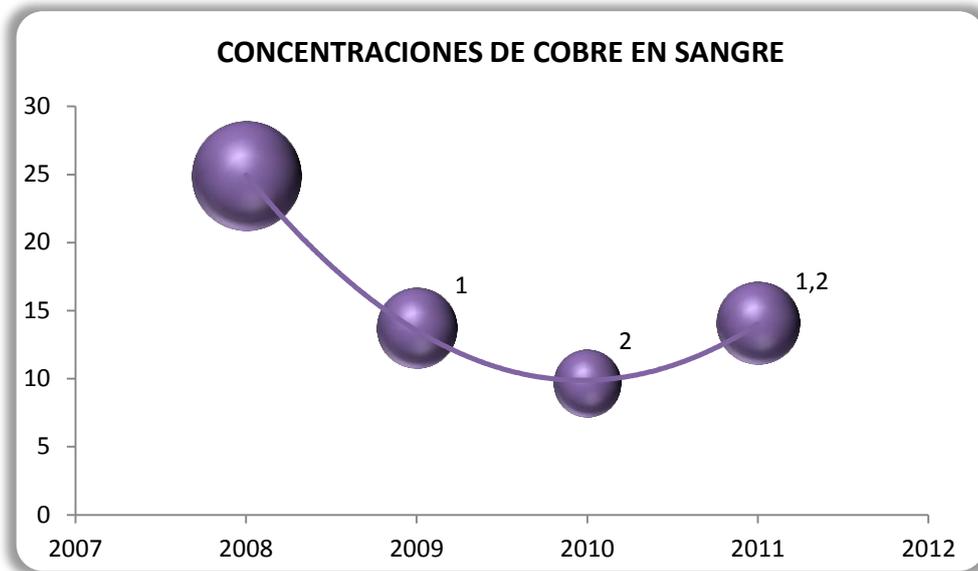
Gráfico V.11. Comparación de concentraciones de cadmio por años en Torrevieja (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron la misma mediana. Se muestra la línea de tendencia.



El cobre, aunque su tendencia fue decreciente con el paso del tiempo presentó un ligero aumento el último año.



Gráfico V.12. Comparación de concentraciones de cobre por años en Torrevieja (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron la misma mediana. Se muestra la línea de tendencia.



Las concentraciones de los metales zinc y mercurio tuvieron un comportamiento similar a lo largo del estudio, aumentando en los años centrales y disminuyendo hacia el final.

Gráfico V.13. Comparación de concentraciones de zinc por años en Torrevieja (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron la misma mediana. Se muestra la línea de tendencia.

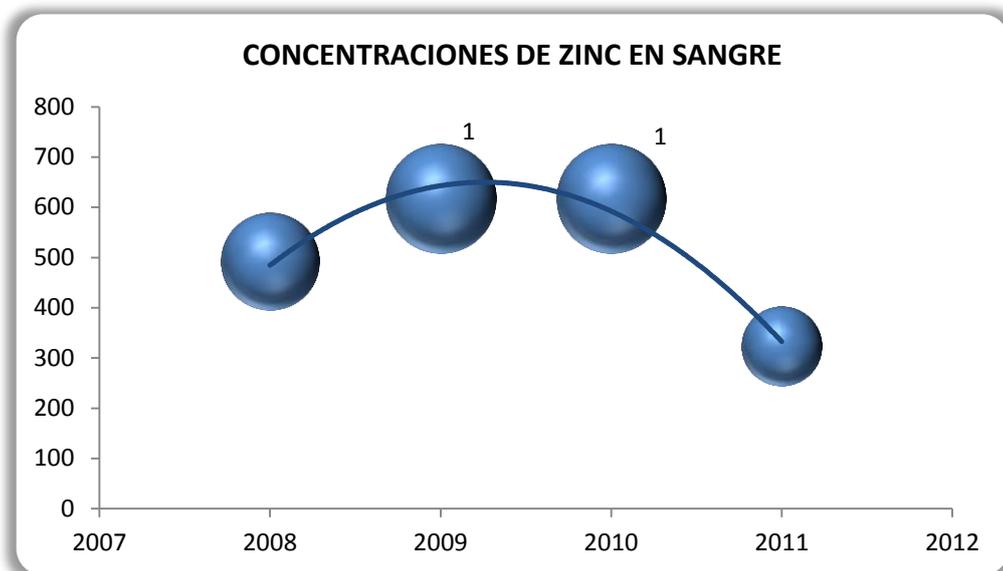
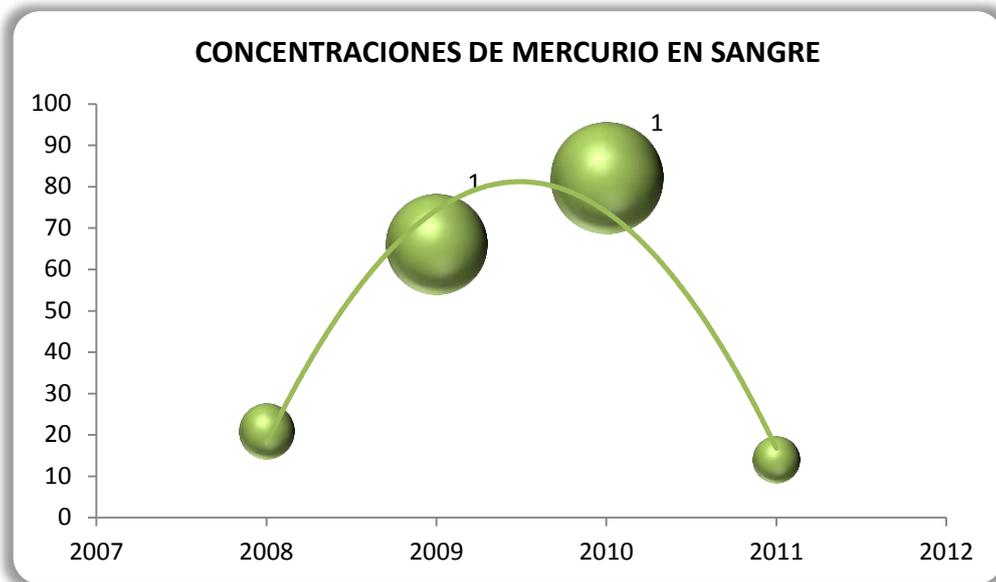


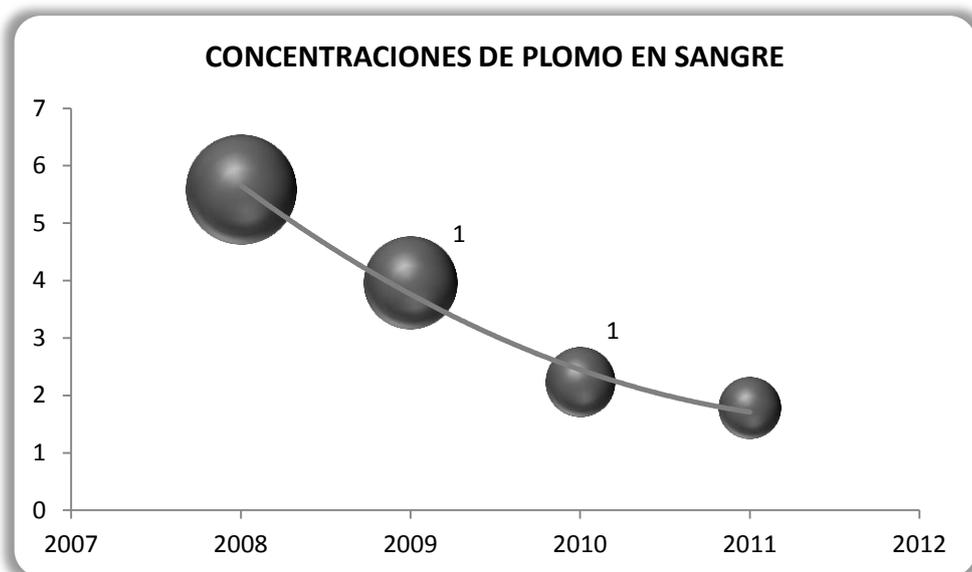


Gráfico V.14. Comparación de concentraciones de mercurio por años en Torrevieja (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron la misma mediana. Se muestra la línea de tendencia.



El plomo, al igual que cadmio y cobre, se comportaron de una forma, partiendo de altas concentraciones y con una tendencia decreciente a lo largo de los años.

Gráfico V.15. Comparación de concentraciones de plomo por años en Torrevieja (se representan las medianas). Los años señalados con el mismo número presentaron la misma mediana. Se muestra la línea de tendencia.



En definitiva, al igual que sucedió en Isla Grosa, la tendencia a la disminución de contaminantes conforme avanzaban los años del estudio fue evidente. Destacar, como en esta localidad el Hg y el Zn presentan un comportamiento similar, hecho que ya se había puesto de manifiesto en apartados anteriores.



V.2.6. EVALUACIÓN DE EFECTOS DE LOS METALES SOBRE LA PRODUCTIVIDAD.

En el estudio que nos ocupa hemos investigado la influencia que tienen los metales zinc, cadmio, plomo, cobre y mercurio, sobre un parámetro reproductivo tan importante como la productividad (número total de pollos que vuelan/número total de parejas). A pesar del sesgo que puede suponer que aquellos pollos con mayores concentraciones de contaminantes hayan muerto en los primeros días de vida o ni siquiera hayan llegado a nacer (⁹²Ackerman *et al.*, 2008), la concentración de metales en sangre es posible que pueda asociarse con descensos de productividad. De esta forma podemos evaluar la importancia de la exposición a estos metales para la viabilidad de la especie.

En la tabla V.10 se muestran los estadísticos descriptivos para cada colonia de cría. En los gráficos V.16 y V.17, se representa la productividad (nº de pollos que vuelan/nº total de parejas) y número de parejas en cada año de estudio respectivamente.

Tabla V.10. Estadísticos descriptivos sobre productividades medias y número de parejas en cada colonia durante los años de estudio (datos cedidos por la Dirección General de Medio Ambiente de la CARM y 93Sarzo *et al.*, 2011).

		N	Media	Desviación estándar.	Mínimo	Máximo
ISLA GROSA	PRODUCTIVIDAD	168	0,92	0,60	0,12	1,70
	Nº DE PAREJAS	168	988,02	125,32	836	1175
SALINAS DE TORREVIEJA VIEJA	PRODUCTIVIDAD	113	0,77	0,24	0,39	1,05
	Nº DE PAREJAS	113	2772,60	1141,02	700	3823
TOTAL	PRODUCTIVIDAD**	281	0,86	0,49	0,12	1,70
	Nº DE PAREJAS**	281	1705,67	1139,54	700	3823

**Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,01$

Gráfico V.16. Datos sobre productividad en cada área de reproducción. Isla Grosa-Torrevieja.

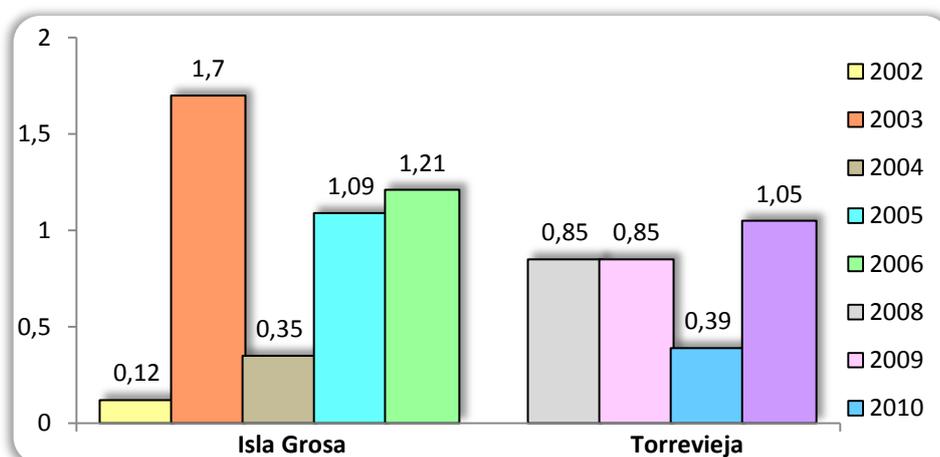
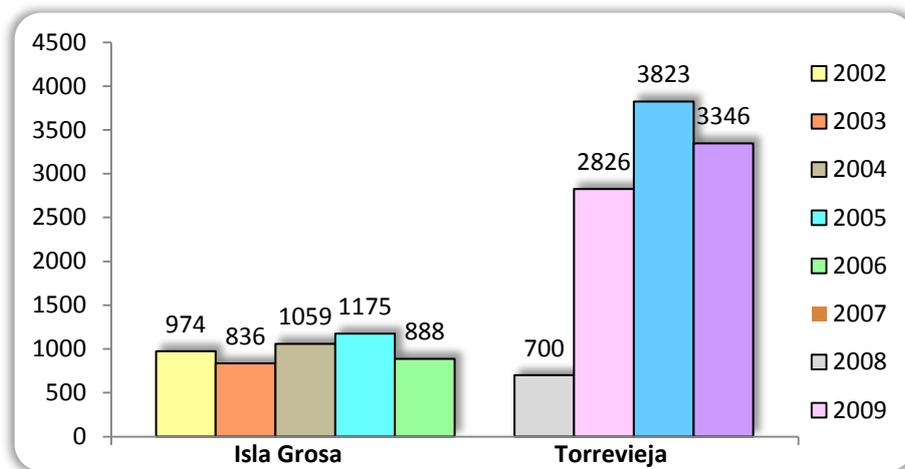




Gráfico V.17. Datos sobre número de parejas en cada área de reproducción. Isla Grosa-Torrevieja.



Durante los años que duró el estudio, se pudo comprobar mediante la realización de la prueba U de Mann-Whitney, que la productividad media fue mayor para la colonia de Isla Grosa que para la de las Salinas de Torrevieja ($p < 0,01$). Nótese, no obstante, la baja productividad del año 2002 que fue debida a unas fuertes lluvias torrenciales que arrasaron la colonia durante el periodo de incubación. Sin embargo, el número medio de parejas fue significativamente mayor en Torrevieja que en Isla Grosa ($p < 0,01$).

Para comparar como se relacionan las concentraciones de cada metal con la productividad se calculó la *Rho* de Spearman comprobando que para toda la población estudiada existía una correlación negativa débil entre las concentraciones de zinc y de mercurio y la productividad (productividad-Zn: $Rho = -0,330$, $p < 0,01$; productividad - Hg: $Rho = -0,246$, $p < 0,01$), así como una correlación positiva entre esta y la concentración de cobre ($Rho = 0,325$, $p < 0,01$). En la tabla V.11 se presentan los resultados en los que se encontraron correlaciones significativas.

Estos datos muestran como en el total de la población los metales zinc y cobre se comportan de forma antagónica. Esta relación ya se ha comentado anteriormente y fue también encontrada por otros autores cuando intentaban correlacionar el estado físico de los animales con las concentraciones de estos dos metales esenciales. Así cuando los animales presentaban mejor condición física las concentraciones de zinc en sangre eran mayores y las de cobre menores. En animales emaciados o en estado de hambruna la relación se invertía (⁹⁴Eisler, 1993; ⁶⁹Debacker, 2001; ⁶⁸Blanco *et al.*, 2004). Sin embargo en nuestro estudio, en la colonia en la que los pollos presentaban mayores concentraciones en sangre de cobre y menores de zinc (Isla Grosa), es decir en la que los datos podían pronosticar un peor estado nutricional de los pollos es donde se obtuvieron mayores productividades, lo que parece indicarnos que dichos niveles de cobre y zinc



encontrados están más relacionados con una exposición ambiental que con una respuesta fisiológica al estrés alimenticio.

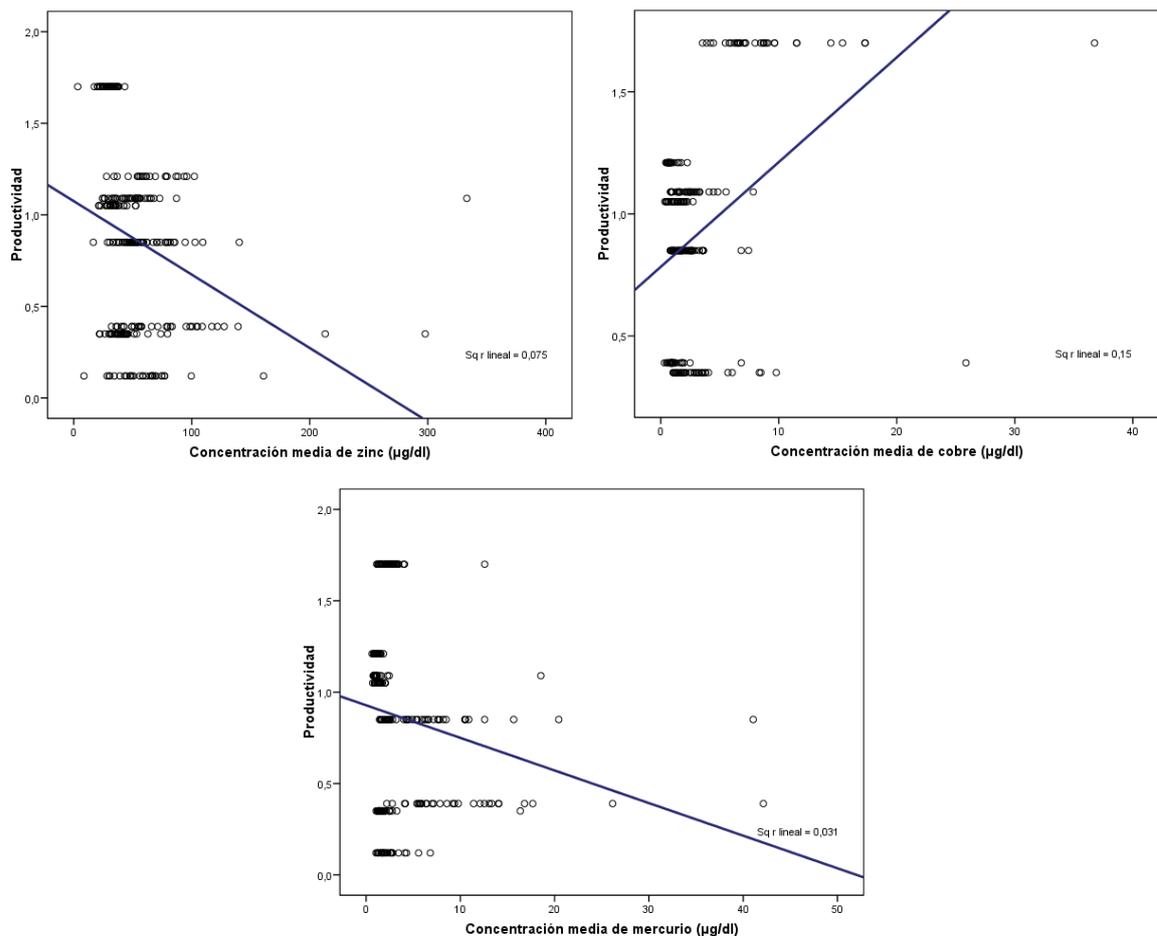
Tabla V.11. Correlación de Spearman entre las concentraciones de metales y la productividad.

CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE METALES Y LA PRODUCTIVIDAD			
METAL	N	Rho de Spearman	Sig. Bilat.
ZINC	281	-0,330**	0,000
COBRE	241	0,325**	0,000
MERCURIO	281	-0,246**	0,000

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

A continuación se presentan los gráficos correspondientes a las correlaciones calculadas para cada metal (gráficos V.18, 19 y 20).

Gráficos V.18, V.19 y V.20: Productividad en función de la concentración de metales zinc, cobre y mercurio en sangre ($\mu\text{g}/\text{dl}$) de pollos de Gaviota de Audouin.



Para evitar interferencia en los datos debido a que presumiblemente los animales en las diferentes colonias se ven expuestos a diferentes fuentes de contaminación, se procedió a analizar cada colonia por separado.



V.2.6.1 CORRELACIONES ENTRE PRODUCTIVIDAD Y CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN LOS INDIVIDUOS PROCEDENTES DE ISLA GROSA.

En Isla Grosa se observó como la productividad se relacionaba negativamente con las concentraciones de zinc y cadmio en sangre y positivamente con las de cobre (productividad-Zn: $Rho = -0,422$, $p < 0,01$; productividad-Cd: $Rho = -0,290$, $p < 0,01$; productividad-Cu: $Rho = 0,478$, $p < 0,01$) (tabla V.12). A pesar de que algunos autores citan una relación directa de las concentraciones de zinc e inversa de las concentraciones de cobre con el estado nutricional de los pollos de ciertas aves (⁶⁸Blanco et al., 2004), estos mismos autores indican que pollos con niveles más bajos de cobre en sangre y peor estado nutricional sufren mayor estrés inmunológico provocado por cadmio, lo que indicaría un efecto protector del cobre frente a este tipo de contaminantes. Además, es conocido el antagonismo entre el zinc y otros elementos como el calcio, el cobre, el hierro y el fósforo cuando el zinc se ingiere en elevadas concentraciones (⁹⁴Eisler, 1993). La importancia de un exceso de consumo de zinc en la dieta de los pollos se debe a que puede interferir con el metabolismo del calcio y del hierro, además de inducir deficiencias en cobre. De hecho, este exceso puede estimular la reabsorción ósea y la inhibición de la formación de huesos en pollos (⁹⁵Kaji et al., 1988). No obstante la correlación encontrada entre la productividad y las concentraciones de cobre en sangre fue baja y moderada para la productividad y las concentraciones de zinc, por lo que no se puede afirmar que uno solo de los metales analizados tengan una verdadera influencia sobre la productividad en la Isla Grosa.

Tabla V.12. Correlación de Spearman entre las concentraciones de metales y la productividad en Isla Grosa.

CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE METALES Y LA PRODUCTIVIDAD EN ISLA GROSA			
METAL	N	Rho de Spearman	Sig. Bilat.
ZINC	162	-0,422**	0,000
CADMIO	162	-0,290**	0,000
COBRE	162	0,478**	0,000

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

V.2.6.2 CORRELACIONES ENTRE PRODUCTIVIDAD Y CONCENTRACIÓN MEDIA DE METALES EN LOS INDIVIDUOS PROCEDENTES DE TORREVIEJA.

En la colonia de Torre Vieja se observaron correlaciones negativas entre la productividad y las concentraciones de zinc, plomo, y mercurio, (productividad-Zn: $Rho = -0,603$, $p < 0,01$; productividad-Pb: $Rho = -0,244$, $p < 0,05$; productividad-Hg: $Rho = -0,767$, $p < 0,01$) y positiva entre la productividad y la concentración de cadmio (productividad-Cd: $Rho =$



0,359, $p < 0,01$ (tabla V.13). En esta colonia el zinc se comportó de la misma forma que en Isla Grosa lo que parece ser concluyente para esta especie y cobra relevancia la importante relación de este metal con la productividad. No obstante, la correlación más fuerte fue la encontrada para las concentraciones de mercurio en sangre y la productividad lo que parece avalar la influencia de este contaminante como una de las principales causas de pérdida de productividad en Gaviota de Audouin. Este hecho ya ha sido comprobado en otras especies de aves acuáticas incluidas (⁹⁶Finley y Stendell, 1978; ⁹⁷Brasso y Cristol, 2008; ^{89,98}Evers *et al.*, 2008). De hecho, se ha comprobado que una concentración de 0,7 $\mu\text{g/g}$ de mercurio en la sangre de los progenitores en paseriformes pueden causar una disminución de un 10% del éxito reproductivo por abandono del nido aumentando un 10% más de fracaso con cada incremento de 0,5 $\mu\text{g/g}$ de mercurio en sangre (⁹⁹Jackson *et al.*, 2011). Además se trata de concentraciones mucho más bajas de las esperadas en los progenitores de Torrevieja, teniendo en cuenta que los parentales de especies de aves piscívoras pueden llegar a presentar concentraciones de mercurio en sangre de 3,6 a 10,6 veces las de sus pollos (¹⁰⁰Evers *et al.*, 2005), y las concentraciones que se detectaron en 2009 y 2010 se podrían, situar siguiendo esta proporción en valores de 267 $\mu\text{g/dl}$ y 340 $\mu\text{g/dl}$ respectivamente.

Respecto a la correlación positiva encontrada entre la concentración de cadmio y la productividad, señalar que puede ser debida a que, como ya dijimos anteriormente, se ha comprobado como los organismos vivos acumulan menor cantidad de cadmio en zonas húmedas con alta salinidad (⁵⁵Frazier, 1979). Esto posiblemente fuera la causa de las concentraciones más bajas observadas en los pollos de gaviota nacidos en Torrevieja frente a los de Isla Grosa y de que estas bajas concentraciones no tuvieran un efecto adverso sobre la productividad en dicha localidad.

Tabla V.13. Correlación de Spearman entre las concentraciones de metales y la productividad en Torrevieja.

CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE METALES Y LA PRODUCTIVIDAD			
METAL	N	Rho de Spearman	Sig. Bilat.
ZINC	109	-0,603**	0,000
CADMIO	109	0,359**	0,000
PLOMO	109	-0,244*	0,010
MERCURIO	109	-0,767**	0,000

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).



V.2.7. MODELIZACIÓN DEL EFECTO DE LOS METALES FRENTE A LA PRODUCTIVIDAD.

Según se desprende del apartado anterior, resulta complicado cuando se estudian varios contaminantes averiguar cuál de ellos tiene mayor influencia sobre los parámetros reproductivos ya que, según hemos visto, varios de ellos pueden tener influencia sobre dichos parámetros, solos o sinérgicamente.

Con el fin de acercarnos al conocimiento de cómo actuaron los diferentes metales estudiados a la hora de influir sobre la productividad de cada una de las colonias estudiadas se realizaron modelos lineales generalizados, en los que los diferentes metales actuaban solos o asociados a otros de forma aditiva o interactiva.

Para ello aplicamos el enfoque metodológico de información descrito por ¹⁰¹Burnham y Anderson (2002) para estudiar la variación de la productividad en relación la concentración de cada uno de los metales los cuales fueron añadidos al modelo como covariables. Las comparaciones de los modelos fueron basados en los criterios de información de Akaike (¹⁰¹Burnham y Anderson, 2002). Ordenamos los modelos basándonos en la diferencias de AIC (Δ_i) y el peso de Akaike (w_i).

La tabla V.14 muestra la clasificación de los modelos usados para explicar las variaciones en la productividad ante el efecto de la exposición a los diferentes metales. Los modelos se han construido hacia atrás, es decir introduciendo en el modelo todos los predictores y extrayéndolos uno a uno. Los mejores modelos ($\Delta_i < 7$), incluyen diferentes combinaciones de los cinco predictores considerados tabla V.15, (concentración de zinc, cadmio, plomo, cobre y mercurio en sangre).

De esta forma pudimos comprobar como para la Isla Grosa los modelos que alcanzan una alta plausibilidad son $Pb+Cu+Zn$ ($w_i=0,432$), $Pb+Cu$ ($w_i=0,274$) y $Cu+Zn$ ($w_i=0,181$), y el metal que mejor explica en solitario la productividad es el Cu ($w_i=0,211$). Es decir que la productividad en la Isla Grosa viene determinada por la combinación de los efectos aditivos de los metales plomo, cobre y zinc. Por otro lado, en la colonia de Torrevieja el único modelo que tuvo un ($\Delta_i < 7$) fue el modelo que contenía como única covariable con influencia sobre la productividad a Hg ($w_i=0,749$). De tal forma que es el mercurio el único que podría explicar la pérdida de productividad en Torrevieja. A pesar de haber comprobado en el apartado anterior la fuerte correlación existente entre el metal zinc y la productividad, este fue eliminado del modelo, para esta colonia, de acuerdo a la falta de significación estadística (Contraste Omnibus $p=0,08$).



Tabla V.14. Hipotética combinación de modelos usados para examinar las variaciones espacio-temporales y tróficas en las concentraciones de metales en sangre de los pollos de Gaviota de Audouin. El símbolo * implica interacción en los modelos (los modelos incluyen la interacción entre los dos factores).

NOTACIÓN DEL MODELO	DESCRIPCIÓN DEL MODELO
Zn	Concentración de zinc en sangre
Cd	Concentración de cadmio en sangre
Pb	Concentración de plomo en sangre
Cu	Concentración de cobre en sangre
Hg	Concentración de mercurio en sangre
Metal + Metal	Efecto aditivo de ambos metales
Metal * Metal	Interacción entre ambos metales
Null	Intersección

Tabla V.15. Clasificación de los modelos usados para explicar las variaciones de la productividad en sangre de pollos de Gaviota de audouin, basados en los criterios de información de Akaike (AIC).

ISLA GROSA					
PRODUCTIVIDAD	K	AIC	Δ_i	wi	ER
Pb+Cu+Zn	4	285,56	0,00	0,432	1,000
Pb+Cu	3	286,47	0,91	0,274	1,576
Cu+Zn	3	287,30	1,74	0,181	2,387
Cu	2	288,67	3,11	0,091	4,735
Cu*Zn	2	292,57	7,01	0,013	33,281
Zn+Pb	3	295,18	9,62	0,004	122,732
Zn*Cd*Hg	2	296,28	10,72	0,002	212,725
Cu*Hg	2	296,36	10,80	0,002	221,406
Cu*Zn*Hg	2	296,68	11,12	0,002	259,823
Null	2	300,67	15,11	0,000	1910,270
SALINAS DE TORREVIEJA					
PRODUCTIVIDAD	K	AIC	Δ_i	wi	ER
Hg	10	164,54	0,00	0,749	1,000
Null	12	166,73	2,19	0,251	2,986



V.3. METALES PESADOS Y COMPUESTOS ORGANOCORADOS EN HUEVOS NO ECLOSIONADOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN: TENDENCIAS ESPACIO-TEMPORALES Y EVALUACIÓN DEL RIESGO.

Existe una relación de los contaminantes ambientales con fenómenos de mortalidad perinatal, disminución de la productividad, alteraciones en el comportamiento, disminución del grosor de la cáscara del huevo, etc., que influyen sobre el éxito reproductor de una especie (¹⁰²Gilbertson *et al.*, 1991; ¹⁰³Elliott y Martin, 1994; ¹⁰⁴McCarty y Second, 1999; ¹⁰⁵Fernie *et al.*, 2008). A consecuencia de estos efectos de la contaminación, muchísimas especies han sufrido importantes mermas en sus densidades poblacionales (¹⁰⁶Mora *et al.*, 1993; ¹⁰⁷Fry, 1995; ¹⁰⁸Henny y Elliott, 2007), incluso hasta niveles críticos. Como ya se ha comentado anteriormente en esta memoria, la Unión Europea viene adoptando desde hace años medidas legislativas que limitan el uso y la producción de ciertos compuestos que pueden afectar a la salud del ecosistema. Como consecuencia se ha producido una disminución progresiva de los niveles de estos contaminantes en el medio y por ende en los tejidos de los animales (¹⁰⁹García-Fernández *et al.*, 2008). No obstante la escasa biodegradación de algunos compuestos sumados a su capacidad de bioacumulación y biomagnificación a través de la cadena trófica, hace que la mayoría de ellos sean fácilmente detectables y permanezcan en la naturaleza y en el interior de los organismos vivos, lo que pone en riesgo a sus poblaciones (¹¹⁰Van den Steen *et al.*, 2009).

Aunque no hay estudios previos realizados sobre huevos de gaviotas en la Región de Murcia, de ahí la importancia de este estudio, si existen en otro tipo de aves como la Aguililla calzada, Azor y Búho real, pudiendo ser utilizados como referencia. De hecho ¹¹¹Martínez-López *et al.* (2007) encontraron una disminución en los niveles de ciertos contaminantes clorados entre 1998 y 2004 en huevos de esta especie, hecho que no fue corroborado por otros autores entre 2005 y 2009 en el que se encontró una estabilización y en ocasiones un aumento para ciertos contaminantes en huevos de búho real (¹¹²Gómez-Ramírez *et al.*, 2012).

Cada vez más, los animales están siendo usados como centinelas de exposición a contaminantes en seres humanos y como indicadores de degradación medioambiental. Además, suponen un problema para la conservación de las poblaciones de animales silvestres (¹¹³O'Connor and Dewling, 1986; ¹¹⁴Rapport, 1989; ¹¹⁵Peakall, 1992; ¹¹⁶National Research Council, 1993). Es por esta razón que hemos abordado el estudio de la concentración de contaminantes en huevos de Gaviota de Audouin en esta memoria.



V.3.1. ESTUDIO DE PARÁMETROS BIOMÉTRICOS DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

En la tabla V.16 se proporciona la información relativa a los parámetros biométricos de los huevos analizados en ambas colonias de cría.

Post-it 1: "En algunas especies, la medida del peso de la cáscara se da en función del área x grosor de la misma. No ha habido cambios en el tamaño del huevo, desde 1946, en algunas de las especies examinadas así que, los cambios observados en el peso de la cáscara son evidentemente debidos a cambios en el grosor. La única explicación podría ser que la densidad de la cáscara y no el grosor, haya cambiado, o que ambos hayan estado relacionados" (²⁵Ratcliffe, 1970).

El peso relativo de la cáscara puede, por lo tanto, ser expresado independientemente de variaciones individuales de su tamaño, por la fórmula:

$$\text{Índice de cáscara } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mm}^2} \right) = \frac{\text{Peso de la cáscara}}{\text{Longitud del huevo (mm)} \times \text{diámetro del huevo (mm)}}$$

Tabla V.16. Parámetros biométricos de huevos no eclosionados de Gaviota de Audouin de dos Islas del Mediterráneo (Isla Grosa e Isla Moltona). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo).

	Isla Grosa (n=21)		Isla Moltona (n=9)	
	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (min-max)	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (min-max)
Índice de Ratcliffe (mg/mm ²)*	2,81 \pm 0,26	2,83 (2,32-3,39)	2,57 \pm 0,18	2,62 (2,22-2,80)
Grosor de cáscara (mm)	0,29 \pm 0,02	0,30 (0,24-0,34)	0,28 \pm 0,01	0,28 (0,26-0,30)
Peso de cáscara (g)**	3,96 \pm 0,31	3,97 (3,41-4,68)	3,60 \pm 0,26	3,58 (3,11-3,93)
Longitud (mm)	62,11 \pm 2,03	62,13 (57,44-65,46)	60,47 \pm 3,23	59,74 (56,31-65,86)
Diámetro (mm)	44,01 \pm 1,43	44,12 (41,91-46,85)	43,12 \pm 1,54	43,60 (40,50-45,18)
Volumen (mm ³)	59,42 \pm 5,50	58,66 (50,13-69,68)	54,72 \pm 6,26	55,36 (45,11-62,80)
Porcentaje de lípidos	9,31 \pm 1,77	8,74 (7,5-15,25)	8,73 \pm 0,89	8,83 (7,53-10,05)

** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,01$

* Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$

Se encontraron diferencias significativas entre los huevos de Isla Grosa e Isla Moltona en cuanto al peso de la cáscara ($t=2,986$, $p < 0,01$). Esto implica una diferencia en el índice de Ratcliffe ($t=2,471$, $p < 0,05$), ya que el peso de la cáscara es el numerador de la fórmula para calcular este. El peso de la cáscara fue mayor en Isla Grosa que en Isla Moltona y ya que esta diferencia no pareció estar relacionada con el tamaño del huevo o el grosor de la cáscara, la diferencia debería de estar asociada a la composición química de la cáscara del



huevo, posiblemente el grado de mineralización y los compuestos que puedan formar parte del mismo (Ca, P, S⁻², Pb, Cd, y otros minerales) (¹¹⁷González e Hiraldo, 1988). De hecho, ¹¹⁷González e Hiraldo (1988) encontraron diferencias en la composición química de la cáscara de huevos de Águila imperial ibérica (*Aquila adalberti*) entre huevos embrionados y no embrionados. El porcentaje de huevos embrionados en Isla Moltona (44,4%) fue superior a Isla Grosa (33,3%), no obstante el número de huevos analizados es demasiado bajo para obtener conclusiones determinantes (n=9 y n=21 respectivamente).

El volumen de los huevos de Gaviota de Audouin ha sido utilizado como un indicador fiable del estado de nutrición de la hembra reproductora durante la época de puesta (³Oró, 1996; ¹¹⁸Oró *et al.*, 1999; ⁵Genovart *et al.*, 2003). Menor volumen de huevos se asocia a peor estado nutricional de los padres. El volumen medio de los huevos de Isla Grosa (59,42±5,50 mm³) fue similar al encontrado por otros autores en esta especie en el Delta del Ebro (Cataluña) (59,1±2,9 a 60,8±3,2 mm³), cuando la flota de arrastre estaba activa en el periodo anterior a la puesta (pre-puesta; ⁵Genovart *et al.*, 2003). Como ya se ha indicado con anterioridad en este estudio, la principal fuente de alimento de la Gaviota de Audouin en el Delta del Ebro son los descartes procedentes de la pesca de arrastre (³⁹Becares *et al.*, 2015), por lo que se supuso que no existió restricción alimenticia en las gaviotas de dicha población durante el tiempo que duró el estudio. Esto nos indicaría, por tanto, la existencia de suficientes recursos alimenticios en Isla Grosa durante los años en los que se realizó el estudio (2000, 2001 y 2003). Señalar que no se observaron diferencias en el volumen de los huevos entre Isla Grosa e Isla Moltona, por lo que estimamos que la disponibilidad de recursos alimenticios fue similar.

Post-it 2: Cálculo del volumen de un huevo de Gaviota de Audouin.

Según ¹¹³Oró *et al.* (1999), el volumen del huevo refleja la disponibilidad de alimento durante el periodo prepuesta. Para calcular el volumen del huevo en gaviota de Audouin se ha de utilizar la fórmula (²⁶³Bolton, 1991):

Vol. (mm³) = 0,000485 x longitud del huevo (mm) x (diámetro)² (mm)

Hay un gran número de factores, además de por la exposición a contaminantes, por los que se puede producir una variación en el grosor de la cáscara del huevo. Entre otras, la diferente localización geográfica (^{119,120}Anderson y Hickey, 1970, 1972), la genética, fisiología, dieta en las hembras o el orden en el que los huevos son puestos (¹²¹Romanoff y Romanoff, 1949) y el tamaño de la puesta (¹²²Rothstein, 1972). También, durante el desarrollo embrionario se puede producir una disminución del grosor de la cáscara en algunas especies (¹²³Kreitzer, 1972; ¹²⁴Booth y Rahn, 1990) por transferencia de sólidos y minerales hacia el embrión, sobre todo en la segunda mitad de la incubación



(¹²⁵Romanoff y Romanoff, 1967), lo cual es previsible ya que el calcio es necesario para la formación del tejido óseo del embrión (¹²⁶Helander *et al.*, 2002). En nuestro estudio, no encontramos diferencias estadísticamente significativas ni en el grosor, ni en el peso de la cáscara, entre huevos embrionados y no embrionados, coincidiendo con los estudios de Pigargo europeo (*Haliaeetus albicilla*) en Suecia (Helander *et al.*, 2002) y de búho real del sureste de España (¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.*, 2012).

Por el contrario, como ya se ha mencionado, si se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas poblaciones en cuanto al peso de la cáscara ($t=3,34$, $p<0,01$) y por tanto en el índice de Ratcliffe (¹²⁸Ratcliffe, 1970) ($t=2,96$, $p<0,01$). Esto se pudo traducir en una peor calidad de la cáscara del huevo en la Isla Moltona (menor peso) que en Isla Grosa. A veces este menor peso puede venir determinado por la existencia de cavidades en la zona mamilar de la cáscara como ocurrió con huevos de Halcón de cola roja (*Buteo jamaicensis*) que presentaban elevadas concentraciones de organohalogenados (¹²⁹Springer, 1980).

La relación $x = \frac{\text{diámetro del huevo (mm)}}{\text{longitud del huevo (mm)}}$ aumenta con la edad de la madre (¹³⁰Warham, 1990). Huevos de diferentes nidadas pueden presentar diferencias en las concentraciones de metales, probablemente relacionado con la edad de la hembra reproductora o con otros parámetros fisiológicos (¹³¹Barret *et al.*, 1985; ¹³²Becker *et al.*, 1989). Se investigó, por tanto, este cociente en ambas colonias comprobando que no existían diferencias entre ambas poblaciones respecto a las edades de las madres. También se investigó la posible relación entre la edad de la madre y el grosor y el peso de la cáscara del huevo con la finalidad de averiguar si hembras de mayor edad mejoran la calidad de la cáscara o por el contrario este es un factor que condiciona dicha calidad, no encontrando ninguna relación estadísticamente significativa.

V.3.2. ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES EN LA CÁSCARA DE HUEVO.

El estudio de contaminantes en la cáscara de huevo no está muy documentado, aunque algunos autores, cuando analizan huevos en busca de contaminantes, intentan correlacionar las concentraciones encontradas en la cáscara con las encontradas en el interior (Kim y Oh, 2014; Mora, 2003). Se sabe que los metales pesados presentes en el medio ambiente pueden ser acumulados por las gaviotas y transferirlos a sus huevos (¹³³Furness, 1993). Los metales pesados se depositan en los sedimentos marinos y en los peces pelágicos, los cuales son la principal fuente de alimentación de las Gaviotas de Audouin (¹³⁴Arinc y Sen, 1999). ¹³⁵Burger (1994) comprobó que una de las principales vías de depleción de metales del organismo en Gaviota argénteo americana era la puesta de



huevos. Por otro lado, ¹³⁶Scheuhammer (1987) apuntó que el paso de metales pesados a los huevos de las aves solo se produce cuando hay una excesiva concentración de estos en los órganos de las aves adultas.

Tras el estudio preliminar de los datos, se optó por eliminar siete huevos (todos de Isla Grosa) por presentar estos, niveles de contaminantes que mostraban signos de una fuerte exposición metálica (cuatro huevos por presentar niveles por encima de 1,04 µg/g de cadmio, un huevo que presentaba niveles de plomo por encima de 0,4 µg/g, un huevo por presentar niveles de cobre por encima de 3 µg/g y un huevo por presentar niveles de zinc por encima de 79 µg/g). Una vez eliminados aquellos valores considerados extremos, se procedió a realizar el tratamiento estadístico de los datos. Las concentraciones de los metales pesados (Zn, Cd, Pb y Cu) en la cáscara de huevo para el total de los huevos estudiados, se muestran en la tabla V.17.

Tabla V.17. Concentraciones de metales pesados en cáscara de huevo (µg/g). Media ± desviación estandar, mediana (mínimo-máximo).

Metal	n	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (max-min)
Zinc	29	7,67 ± 4,71	5,27 (2,86-20,11)
Cadmio	26	0,002 ± 0,002	0,002 (5x10 ⁻⁴ -0,006)
Plomo	28	0,16 ± 0,08	0,14 (0,07-0,39)
Cobre	26	1,16 ± 0,49	0,97 (0,41-2,11)

El contenido en metales de la cáscara de huevo puede proporcionarnos una buena estimación de la cantidad que se encuentra en el interior del huevo (¹³⁷Ayaş *et al.*, 2008). Sin embargo, en algunos estudios se comprobó como la concentración de metales en el interior del huevo era de entre 2 y 35 veces inferiores a las encontradas en la cáscara (¹³⁸Mora, 2003). La cáscara de huevo está compuesta principalmente por calcio, y diversos autores han comprobado que metales traza como el cadmio y el plomo pueden interactuar con los patrones metabólicos del calcio (¹³⁶Scheuhammer, 1987). De esta forma, estos metales se incorporan más fácilmente a la cáscara de huevo que al contenido. Sin embargo, zinc y cobre están embebidos en la estructura cuaternaria de algunas proteínas y el contenido del huevo tiene mayor concentración de proteínas que la cáscara, por lo que son encontrados con mayor concentración en este lugar (¹³⁹Dauwe *et al.*, 1999). Aunque las concentraciones de los metales en la cáscara pueden variar entre zonas contaminadas y no contaminadas, las concentraciones en el interior del huevo no muestran esas diferencias, de lo que se deduce que las concentraciones de zinc y cobre son homeostáticamente controladas en el interior del huevo (¹³⁹Dauwe *et al.*, 1999).



Los cuatro metales estudiados fueron detectados en todas las muestras. La concentración más alta encontrada fue para el metal zinc, lo que también se ha comprobado en otras especies de aves marinas como el Albatros (*Phoebastria albatrus* y *P. nigripes*) (¹⁴⁰Ikemoto *et al.*, 2005) y las Gaviotas colinegras (*Larus crassirostris*) (¹⁴¹Kim y Oh, 2014), siendo el cadmio el detectado en concentraciones más bajas. Respecto a los dos metales esenciales, las concentraciones encontradas para el metal zinc ($7,67 \pm 4,71 \mu\text{g/g}$), son superiores a las encontradas por ¹⁴²Morera *et al.*, (1997), en cáscara de huevos de Gaviota de Audouin del Delta del Ebro hace dos décadas ($6,58 \pm 2,12 \mu\text{g/g}$), y a las encontradas en otras especies marinas piscívoras como el Albatros colicorto (*Phoebastria albatrus*) ($5,61 \pm 4,74 \mu\text{g/g}$) y el Albatros patinegro (*Phoebastria nigripes*) ($3,39 \pm 3,11 \mu\text{g/g}$) (¹⁴⁰Ikemoto *et al.*, 2005). No obstante, como ya se ha mencionado, el metal zinc se acumula mucho más en el interior del huevo que en la cáscara. De hecho los niveles de zinc encontrados por ¹⁴²Morera *et al.*, (1997) en Gaviota de Audouin, fueron 10 veces superiores en el interior del huevo que en la cáscara. Respecto al metal cobre, la concentración media encontrada ($1,16 \pm 0,49 \mu\text{g/g}$) fue la mitad de la encontrada en cáscara de Gaviota de Audouin por ¹⁴²Morera *et al.*, (1997; $2,14 \pm 0,70 \mu\text{g/g}$) y también fue inferior a la encontrada por ¹³⁷Ayaş (2008) en la misma especie en Turquía ($>1,85 \pm 2,57 \mu\text{g/g}$). Los niveles de cobre en la cáscara de esta especie suelen ser similares a los encontrados en el interior del huevo. ¹⁴²Morera *et al.*, (1997) encontraron 2,58 y 2,14 $\mu\text{g/g}$ en contenido de huevo y cáscara respectivamente al igual que ¹⁴³Richards (1997), que en huevos de Pavo (*Meleagris gallopavo*) encontró, prácticamente, las mismas concentraciones en el interior del huevo que en la cáscara y sus membranas. Sin embargo en otras especies como el Albatros colicorto y el Albatros patinegro, la concentración de cobre en la cáscara no supuso más del 2,3% de la cantidad total en huevo (Ikemoto *et al.*, 2005) y en Carbonero común (*Parus mayor*) y Herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*) la concentración en contenido se situó entre 1,7 y 1,9 veces el encontrado en la cáscara (¹³⁹Dauwe *et al.*, 1999).

Respecto a cadmio y plomo destacar que ambos metales pueden interactuar con las vías metabólicas del calcio y en consecuencia estos metales se incorporan más fácilmente a la cáscara del huevo (¹³⁶Scheuhammer, 1987). ¹⁴²Morera *et al.*, (1997) no encontraron ninguno de estos metales en la cáscara de los huevos analizados de Gaviota de Audouin. Estos autores atribuyeron este hecho a la baja contaminación por cadmio y plomo del medio circundante en el momento de la puesta, siguiendo el criterio de ¹³⁶Scheuhammer (1987) que advertía que la movilización de metales al huevo solo se produce cuando existen elevados niveles de contaminación en el medio. En nuestro estudio se encontraron concentraciones bajas de cadmio ($0,002 \pm 0,002 \mu\text{g/g}$). Estas concentraciones fueron inferiores a las encontradas en otras especies de gaviotas omnívoras como la



Gaviota argétea americana (*Larus smithsonianus*) o la Gaviota japonesa, las cuales suelen alimentarse, además de peces y crustáceos, de carroña y residuos sólidos urbanos (¹⁴⁴Gochfeld, 1997; ¹⁴¹Kim y Oh, 2014). No obstante, las concentraciones de cadmio en nuestro estudio, fueron similares a las encontradas en especies eminentemente piscívoras como el Pingüino juanito (*Pygoscelis papua*) en la Antártida (<0,05 µg/g; ¹⁴⁵Metcheva *et al.*, 2011), o el Charrán embridado (*Onychoprion anaethetus*) en las islas de la costa este de Hong Kong (0,002 µg/g; ¹⁴⁶Lam *et al.*, 2005), lo que corrobora cierta especialización en la dieta de la Gaviota de Audouin. Las concentraciones de plomo encontradas (0,16±0,08 µg/g), son muy inferiores a las encontradas en cáscara de huevo de Gaviota de Audouin en el mediterráneo oriental (0,95±1,0µg/g) y en el Mar Egeo (4,6±5,8 µg/g) por ¹³⁷Ayaş *et al.* (2008) y superiores a las encontradas en otras aves piscívoras como el Albatros colicorto (0,01 µg/g; ¹⁴⁰Ikemoto *et al.*, 2005), Albatros patinegro (0,04 µg/g; ¹⁴⁰Ikemoto *et al.*, 2005) y Charrán embridado (0,06 µg/g; ¹⁴⁷Lam *et al.*, 2005). ¹⁴⁸Leonzio *et al.*, (1989) en una zona fuertemente contaminada por mercurio e hidrocarburos en el Archipiélago Toscano (Italia) encontraron concentraciones de plomo en huevos por encima de 0,1 µg/g en gaviotas de Audouin. Esto parece avalar la posibilidad de una menor contaminación por plomo y cadmio en las aguas del mediterráneo occidental frente a las de otras latitudes como el mediterráneo oriental, aunque esta contaminación parece haber aumentado en las últimas dos décadas. No obstante, estos niveles no parecen suponer un problema extraordinario de exposición a los metales estudiados.

Los metales pesados tienden a concentrarse más en la cáscara del huevo que en el contenido del mismo, a excepción de los oligoelementos metálicos (Zn y Cu) (¹⁴²Morera 1997; ¹³⁸Mora, 2003), por lo que también podemos concluir que las concentraciones de metales en el contenido de los huevos de ambas colonias de reproducción (Isla Grosa e Isla Moltona) debían ser menores o iguales a las concentraciones encontradas en sus cáscaras excepto para Cu y Zn.

Las aves de ecosistemas acuáticos indican claramente tendencias espaciales de contaminación a pequeña o gran escala (¹⁴⁹Becker, 2003). De hecho se han observado diferencias entre colonias de diferentes lagos e incluso entre diferentes lugares de cría en el mismo lago (¹⁵⁰Mineau *et al.*, 1984; ^{151,152}Weseloh *et al.*, 1989,1990; ^{153,154}Ryckman *et al.*, 1997,1998). También, ¹⁴⁴Gochfeld (1997) comprobó como a pesar de que varias colonias de Gaviota argétea americana no se encontraban a una gran distancia unas de otras, los patrones de contaminación que exhibían sus huevos eran muy diferentes. Esto se lo achacó a la diferente contaminación en los alrededores de la colonia de cría. Este dato puede ser de utilidad cuando hablamos de especies coloniales eminentemente



piscívoras como la Gaviota de Audouin, ya que su patrón de contaminantes estará fuertemente determinado por las emisiones de contaminantes en los alrededores de la colonia, sumado a la variabilidad por la composición de la dieta.

V.3.2.1 DIFERENCIAS EN CONCENTRACIONES DE METALES EN HUEVOS ENTRE COLONIAS DE REPRODUCCIÓN.

Tras comparar ambas colonias de reproducción entre sí (mediante la prueba de Levene sobre la igualdad de varianzas y pruebas t de varianzas combinadas y separadas sobre la igualdad de las medias), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los metales estudiados (tabla V.18), lo que parece indicar similares patrones de exposición en ambos lugares, a pesar de la gran distancia entre ellos (199 millas náuticas; gráfico V.21). Ya que los huevos reflejan la absorción de contaminantes debida a la alimentación de la hembra cerca de la colonia de cría pocos días antes de la puesta, incluso en especies migratorias como esta (¹⁴⁹Becker, 2003), parece que la gaviota de Audouin recurre a presas similares y expuestas a las mismas concentraciones de metales en ambas islas, ya que diferentes grados de exposición a través de las presas deberían de reflejarse en las cáscaras al menos para los metales cadmio y plomo como comprobó ¹³⁹Dauwe *et al.*, (1999) en Carbonero común (*Parus major*) y Herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*).

De hecho, la dependencia principalmente de la pesca de cerco y el aprovechamiento de los descartes pesqueros es similar en ambas localidades (¹⁵⁵Muntaner, 2003; ⁷⁰03/Nat/E/000061, Proyecto Life), al contrario de lo que sucede en la colonia del Delta del Ebro donde su gran dependencia de los descartes procedente de la pesca de arrastre ha sido ampliamente documentada (¹⁵⁶Lambertini *et al.*, 1994 ¹⁵⁷Pedrocchi *et al.*, 2002; ³⁹Becares *et al.*, 2015).

Tabla V.18. Concentraciones de metales pesados en cáscara de huevo en cada colonia de cría ($\mu\text{g/g}$). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo).

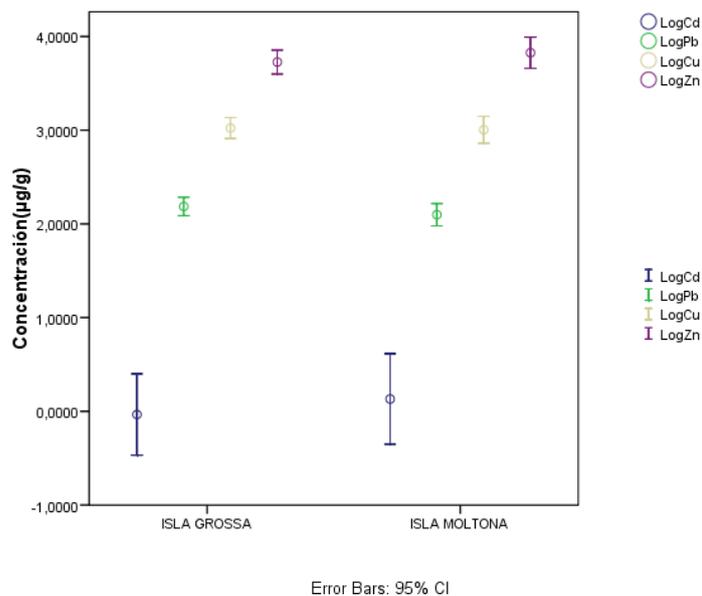
	Isla Grosa			Isla Moltona	
	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (min-max)	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (min-max)
Zinc	21	7,78 \pm 4,05	5,24 (2,86-20,11)	7,44 \pm 3,53	6,07 (3,29-12,83)
Cadmio	17	0,002 \pm 0,002	0,002 (5×10^{-4} -0,006)	0,002 \pm 0,001	0,002 (7×10^{-4} -0,004)
Plomo	19	0,18 \pm 0,08	0,16 (0,07-0,39)	0,13 \pm 0,05	0,11 (0,08-0,23)
Cobre	17	1,21 \pm 0,53	0,96 (0,48-2,11)	1,08 \pm 0,42	0,98 (0,41-1,89)

¹⁴⁰Ikemoto y colaboradores (2005) encontraron una relación inversa entre la edad de la madre y las concentraciones de cadmio y otros contaminantes en Albatros patinegro. Con



la finalidad de averiguar si existía alguna relación entre el tamaño de los huevos (medida indirecta de la edad de la madre) (ver apartado V.3.1) y la concentración de metales en la cáscara, se hizo un estudio de correlaciones simple, no observándose relación estadísticamente significativa.

Gráfico V.21. Comparativa del patrón de contaminantes metálicos en las dos zonas de estudio: Isla Grosa e Isla Moltona.



V.3.2.2 DIFERENCIAS EN CONCENTRACIONES DE METALES ENTRE HUEVOS EMBRIONADOS Y NO EMBRIONADOS DE LA COLONIA DE ISLA GROSA.

Se analizó el grado de desarrollo embrionario en los huevos no eclosionados de gaviota y posteriormente se estudió si existían diferencias en cuanto a la concentración de metales en la cáscara. Se comprobó que, excepto para el metal zinc ($t= 2,423$; $p<0,05$), en el que las concentraciones fueron mayores en huevos embrionados que en no embrionados (Media=10,37±4,39 y 6,25±4,32 µg/g respectivamente), para el resto de metales no existían diferencias. Destacar que en el caso de los huevos embrionados, los pollos se encontraron en diferentes estadios de desarrollo. ¹⁴³Richards (1997) afirmaba que en pollos de Pavo los niveles de zinc hepático en los embriones descendían drásticamente desde el día 14 al 28 de incubación, disminuyendo su concentración a la mitad. Las concentraciones de cobre aumentan hacia el día 23, manteniéndose elevadas hasta el día de la eclosión. Por otro lado, como ya hemos comentado, las concentraciones de zinc en el contenido del huevo en Gaviota de Audouin puede llegar a ser hasta 10 veces el encontrado en la cáscara (¹⁴²Morera *et al.*, 1997), por lo que en nuestros huevos embrionados la concentración de zinc en el interior del huevo podría haber llegado a ser de 100 µg/g frente a los 52,82 µg/g encontrados por este autor. Puede ser por tanto, que huevos con elevados niveles de zinc favorezcan el desarrollo del embrión frente a



aquellos con niveles más bajos, pero llegado el día 14 de incubación los niveles en el huevo puedan resultar letales al competir por la unión a metalotioneinas con el cobre embrionario impidiendo que este pueda realizar su función. De esta forma, huevos con concentraciones altas de zinc, pero no lo suficientemente tóxicas, habrían producido, la eclosión a término y sin embargo, en aquellos huevos con niveles tóxicos el embrión habría muerto entre el día 14 y el 28.

V.3.2.3 ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES EN HUEVOS DE LA COLONIA DE ISLA GROSA.

Para comprobar las correlaciones entre metales y a la vista de que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas colonias, se analizaron los resultados obtenidos de ambas colonias conjuntamente observando correlaciones positivas entre todos los metales ($P_{Pb-Cd}=0,538$, $p<0,01$; $P_{Pb-Cu}=0,760$, $p<0,01$; $P_{Pb-Zn}=0,627$, $p<0,01$; $P_{Cu-Cd}=0,770$, $p<0,01$; $P_{Cu-Zn}=0,568$, $p<0,01$; $P_{Cd-Zn}=0,691$, $p<0,01$). ¹⁴²Morera *et al.* (1997) no encontraron ninguna correlación entre los diferentes metales en cáscara de huevo de Gaviotas de Audouin aunque dichos autores no detectaron cadmio ni plomo en dichas cáscaras. Nuestros datos sugieren una fuente común de contaminación para todos los metales.

Como ya se ha mencionado, existen dos fuentes extraordinarias de contaminación frente a Isla Grosa. El canal del Estacio que comunica la laguna del Mar Menor con el Mediterráneo, la cual se encuentra contaminada con metales pesados (¹⁵⁸Martínez-Menchón, 2007), y los seis emisarios que envían el efluente sin tratamiento alguno al mar Mediterráneo. Estos están situados a lo largo de diversas urbanizaciones y su longitud varía según las diferentes profundidades de la zona. Todos ellos vierten sus residuos entre diez y doce metros de profundidad, sin ningún procedimiento de tratamiento para su regeneración (⁵¹Morales, 2013).

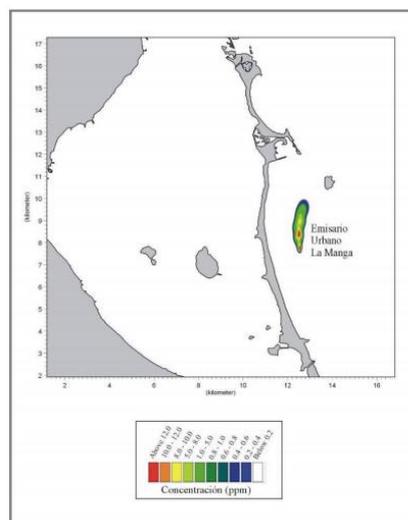


Imagen V.5. Fuentes de contaminación en la zona: emisario de aguas residuales de La Manga del Mar Menor (Fuente: Ministerio de Medio Ambiente)



¹⁵⁹Palanques y Díaz (1990) estudiando la contaminación por dos efluentes fluviales y un emisario submarino procedente de una depuradora en la plataforma continental de Barcelona, observaron una fuerte correlación entre cromo, cobre, níquel, cadmio y plomo, cuando se caracterizaron los contaminantes de los sedimentos superficiales. Estos autores indicaron que los sedimentos de la zona estudiada se veían afectados por la contaminación de los cinco metales en su conjunto y que la correlación entre ellos nos mostraba un paralelismo en su comportamiento así como una fuente común de contaminación.

Tabla V.19. Correlaciones entre los metales estudiados en cáscara de huevo.

	ZINC	CADMIO	COBRE
CADMIO	0,691**		
COBRE	0,568**	0,770**	
PLOMO	0,627**	0,538**	0,760**

**La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral)

V.3.2.4 ESTUDIO DE LAS CORRELACIONES ENTRE METALES Y PARÁMETROS BIOMÉTRICOS.

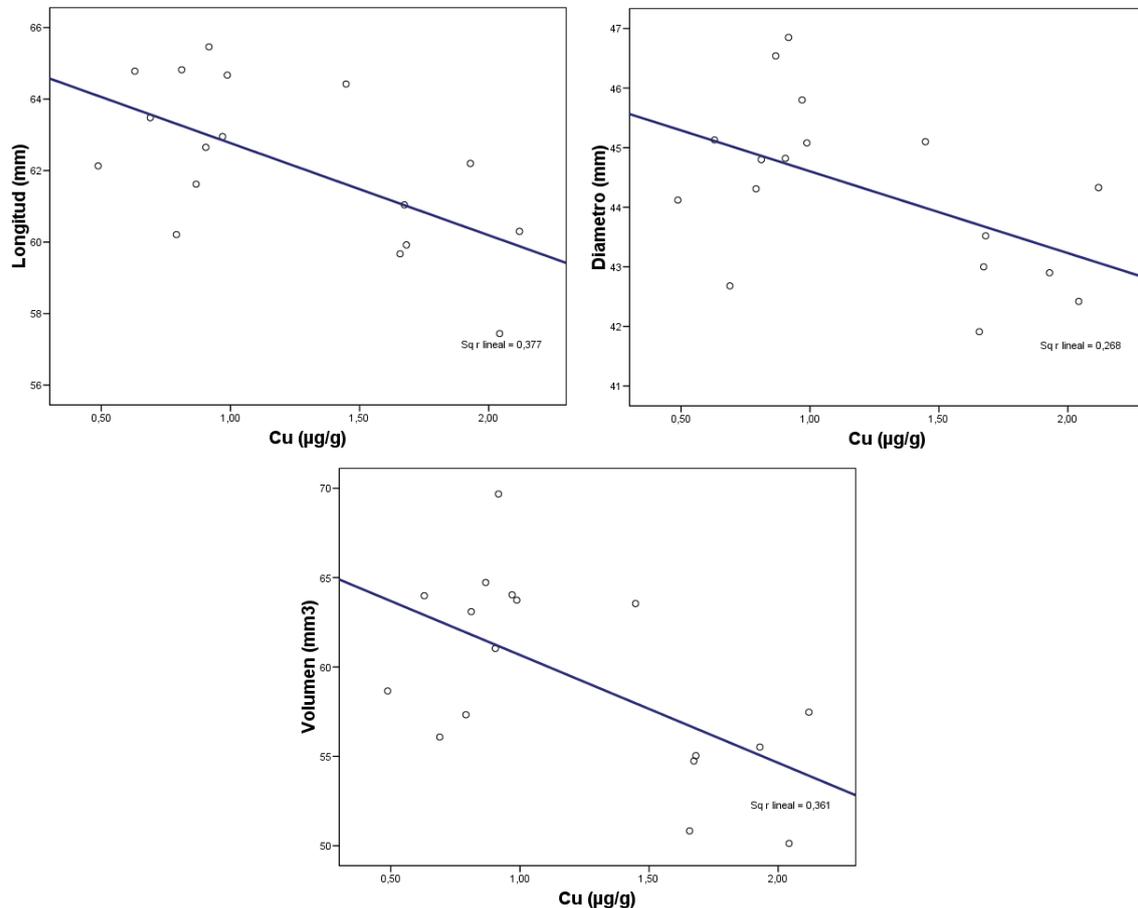
En nuestro estudio de los huevos de Isla Grosa encontramos una correlación negativa entre la concentración de cobre y el tamaño de los huevos (Pearson $_{Cu-longitud} = -0,614$; $p < 0,01$; Pearson $_{Cu-Diámetro} = -0,517$; $p < 0,05$; Pearson $_{Cu-Volumen} = -0,601$, $p < 0,05$) (gráfico V.22). ³Oró *et al.*, (1996) comprobaron como el volumen de los huevos de Gaviota de Audouin estaba asociado al estado nutricional de la madre en la época prepuesta (mejor estado nutricional significaba mayor volumen de los huevos). Este volumen es independiente del sexo del pollo ya que la determinación sexual estaba más relacionado con la fecha de nacimiento del pollo (más o menos avanzada la temporada de cría) y si el huevo del que nacía era el puesto en primer, segundo o en tercer lugar (Genovart *et al.*, 2003).

En principio, mayor disponibilidad de alimento durante la época de prepuesta debe mejorar la condición física de las hembras colaborando esta circunstancia con la puesta de huevos de mayor volumen. Teniendo esto en cuenta, es fácil de asociar mayor disponibilidad de alimentos en la época de prepuesta con un mayor volumen en los huevos y una menor concentración de cobre en su cáscara. La relación entre el cobre y el volumen del huevo fue comprobado por ¹⁶⁰Eeva y Lehikoinen (1995) cuando estudiaron los huevos de poblaciones de Papamoscas cerrojillo (*Ficedula hypoleuca*) en zonas más o menos alejadas de una fundición de cobre, observando como el volumen del huevo aumentaba en estas aves conforme se alejaban de la fundición. Este hecho se lo achacaron a la variación en el diámetro del huevo. No encontraron sin embargo esta



relación con la longitud del huevo. Estos hallazgos están en consonancia con lo encontrado en este estudio.

Gráfico V.22. Correlaciones entre el volumen, diámetro del huevo y la concentración de cobre en cáscara en Isla Grosa.

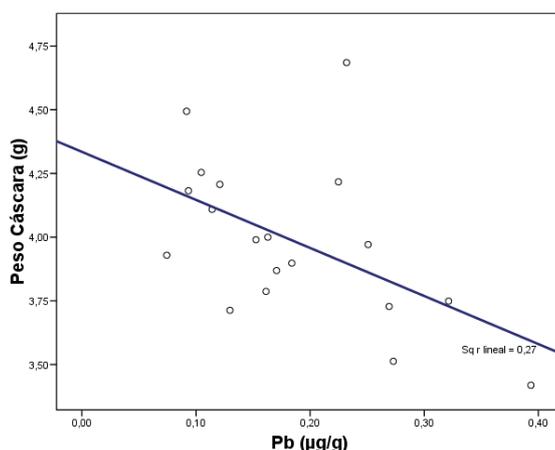


También encontramos una correlación negativa entre la concentración de plomo y el peso de la cáscara (Pearson Pb -peso cáscara = -0,580; $p < 0,05$). El plomo puede interactuar con las vías metabólicas del calcio incorporándose con facilidad a la cáscara de huevo (¹³⁶Scheuhammer, 1987). En la época de puesta se produce una depleción de calcio de los huesos y un aumento de la formación de proteínas captadoras de calcio, con un consecuente aumento de la absorción calcio a nivel intestinal. La absorción de Pb a nivel intestinal incrementa concurrentemente con el aumento de la síntesis de proteínas captadoras de calcio sensibles a la vitamina D (¹⁶¹Edelstein *et al.*, 1984). De esta manera el plomo puede depositarse junto con el calcio en la cáscara del huevo interfiriendo con este. Perturbaciones en el metabolismo del calcio puede generar la producción de huevos de peor calidad y menor éxito reproductivo (¹⁶⁰Eeva y Lehikoinen, 1995). No obstante, ¹⁶²Pattee (1984) comprobó que altas concentraciones de plomo en hueso e hígado de las hembras no tenía efectos adversos sobre la puesta de huevos, iniciación de la incubación o el grosor de la cáscara tras alimentar a Cernícalos americanos (*Falco sparverius*) con



dosis de 50 ppm de plomo. ¹⁶³Dauwe *et al.* (2004) tampoco encontraron cambios en los parámetros biométricos de los huevos de Herrerillo común a diferentes distancias de un foco emisor de contaminación, lo que contraviene lo encontrado en los huevos de Isla Grosa.

Gráfico V.23. Correlaciones entre el peso de la cáscara y la concentración de plomo en cáscara en Isla Grosa.



Por otro lado aunque en los huevos de Isla Moltona se encontró una fuerte correlación negativa entre la concentración de cobre y el grosor de la cáscara ($\text{Pearson}_{\text{Cu-Grosor}} = -0,804$, $p < 0,01$), al igual que encontraron ¹⁶⁰Eeva y Lehtikoinen (1995) tanto en Carbonero común como en Papamoscas cerrojillo. No hemos encontrado dicha relación en los huevos de Gaviota de Audouin de Isla Grosa.

V.3.3. ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE ORGANOCORADOS EN CONTENIDO DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS.

Aunque se ha descrito una disminución en el contenido de lípidos del huevo debido al desarrollo embrionario, lo que conllevaría una mayor concentración de compuestos liposolubles (¹⁶⁴Peakall and Gilman, 1979; ¹²⁶Helander *et al.*, 2002), en nuestras muestras, al igual que en el estudio realizado por ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) en Búho real, no hemos encontrado dichas diferencias. Por tanto podemos estudiar cada colonia de cría en su conjunto, independientemente del desarrollo embrionario que presenten.

Todos los compuestos analizados fueron detectados en los huevos, excepto DDT, DDD, α -HCH, γ -HCH y los congéneres de PCBs 8, 18, 28, 29, 31, 52, 77, 81, 114, 123, 126, 141, 169, 199, 205 y 209.

De todos los insecticidas organoclorados estudiados el HCB no se detectó en diez de los treinta huevos investigados, el resto se detectaron en todos los huevos. Las mayores concentraciones se dieron en p,p-DDE y dieldrín, mientras el HCB fue el que se detectó en menor concentración.



En la tabla V.20 se muestran los datos obtenidos para los organoclorados estudiados. En relación a las concentraciones de PCBs, dada la gran cantidad de congéneres analizados se muestra como sumatorio de PCBs, al igual que sucede con los TEQs (PCBs tipo Dioxina). En este último grupo se incluyen los congéneres de PCB 105, 118, 156, 157, 167 y 189, a los que se les aplica su correspondiente valor de TEF, obteniendo la concentración equivalente tóxica (TEQ) (¹⁶⁵Safe, 1990; ¹⁶⁶van den Berg *et al.*, 1998).

Tabla V.20. Concentraciones de insecticidas organoclorados en huevos no eclosionados de Gaviota de Audouin en cada colonia estudiada (ng/g, peso lípidos). TEQs (pg/g peso lípidos). (nd= no detectado). Media±desviación estandar, mediana (mínimo-máximo).

	Total analizados (n=30)	
	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (min-max)
DDT	nd	nd
DDD	nd	nd
DDE	7579,99 ± 4771,57	6114,32 (1111,01-23126,63)
α-HCH	84,29 ¹	
γ-HCH	nd	nd
HCB	71,02 ± 32,80	69,18 (nd ₍₁₀₎ -134,27)
Dieldrín	363,48 ± 198,04	355,23 (114,38-990,92)
∑PCBs	21248,41 ± 9579,17	19078,74 (6732,17-46365,39)
∑TEQs	88,63 ± 37,56	81,31 (25-196,46)

¹ Solo se detectó en el contenido de un huevo.

Si bien los niveles de organohalogenados fueron superiores en Isla Grosa que en Moltona, las diferencias fueron significativas respecto de las concentraciones de dieldrín ($t=4,74$, $p<0,01$) y de ∑PCBs ($t=2,64$, $p<0,01$) (tabla V.21). En temporadas de cría en las que existen suficientes recursos alimenticios, los huevos están principalmente compuestos de lípidos generados por el consumo de alimentos durante el periodo reproductivo y no tanto por las reservas almacenadas por la madre en su organismo (¹⁶⁷De Luca-Abbott *et al.*, 2001). Entendemos que las diferencias encontradas se deben a los distintos niveles de contaminación en los alrededores de cada colonia de cría.



Tabla V.21. Concentraciones de insecticidas organoclorados en huevos no eclosionados de Gaviota de Audouin en cada colonia estudiada (ng/g, peso lípidos). TEQs (pg/g peso lípidos); Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo), nd= no detectado.

	Isla Grosa (n=21)		Isla Moltona (n=9)	
	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (min-max)	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (min-max)
DDT	nd	-	nd	-
DDD	nd	-	nd	-
DDE	8017 \pm 5083	6365 (1695-23126)	6558 \pm 4030	5632 (1111-12306)
α -HCH	nd	-	84,29 ¹	
γ -HCH	nd	-	nd	-
HCB	77,54 \pm 31,96	78,50 (nd ₍₅₎ -134,27)	51,80 \pm 31,18	nd (nd ₍₅₎ -105,72)
Dieldrín**	448,54 \pm 176,26	424,26 (164,67-990,92)	165,01 \pm 34,73	158,45 (114,38-213,53)
Σ PCBs**	23720 \pm 10052	21946 (8840-45970)	14587 \pm 3739	15988 (6207-18977)
Σ TEQs*	97,92 \pm 39,68	91,59 (34,08-196,46)	66,94 \pm 20,56	70,80 (25,00-96,05)

** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,01$

* Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$

¹ Solo se detectó en el contenido de un huevo.

La concentraciones de p,p' -DDE en ambas localizaciones fueron superiores a las encontradas en huevos de Azor en la Región de Murcia obtenidos entre los años 1998 y 2004 (3172 ng/g peso lípidos) (¹⁶⁸Martínez-López, 2005). Sin embargo fueron más próximas, aunque inferiores a las encontradas por Martínez-López en el mismo estudio en Aguililla calzada (11081 ng/g peso lípidos), y la mitad de las encontradas en Búho real también en la región de Murcia entre los años 2004 y 2009 (16290 ng/g peso lípidos), por ¹²⁷Gomez-Ramirez *et al.* (2012). No existe demasiada información reciente de la contaminación por organoclorados en huevos de Gaviota de Audouin en nuestro país. Además, la gran variedad de formas de presentación de los resultados hace difícil la comparación, ya que algunos autores los presentan en peso húmedo, otros en peso seco, otros en peso de lípido y otros no indican las unidades empleadas (Pastor *et al.*, 1995; ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.*, 2012). Esta falta de uniformidad de los datos puede ser debida a que la mayoría de las investigaciones fueron realizadas hace más de dos décadas (¹⁶⁹González *et al.*, 1991; ¹⁷⁰Pastor *et al.*, 1995). También las técnicas de análisis son actualmente mucho más sensibles, lo que nos permite detectar niveles de contaminantes



más bajos con mayor precisión. No obstante, en un estudio realizado sobre huevos de Gaviota de Audouin en el año 2010 en el Delta del Ebro, una zona expuesta a contaminación agrícola e industrial (¹⁷¹Morales *et al.*, 2012), se obtuvieron concentraciones medias de 13,23 ng/g (peso húmedo) de p,p'-DDE, lo que supone alrededor de 50 veces menos concentración de la encontrada en nuestro estudio (731,21 ng/g peso húmedo) en huevos no eclosionados. ¹⁷²Goutner *et al.* (2001) encontraron niveles tremendamente bajos (1-11 ng/g peso lípidos) de DDE en Gaviota de Audouin en el Mediterráneo oriental en los años 1997 y 1998. ¹⁷³Pastor *et al.* (1995) da niveles para la suma de Σ DDTs (DDT+DDE+DDD) de 4610 ng/g peso seco para Gaviota de Audouin del Delta del Ebro en el año 1992. Las concentraciones encontradas en nuestras muestras recogidas en Isla Grosa, si se expresan en peso seco (3158,76 ng/g) son ligeramente inferiores a las encontradas por estos autores 10 años antes. Al margen de la diferencia en la calidad de las aguas que rodean las colonias investigadas del Delta del Ebro y de Isla Grosa, los casi 10 años transcurridos entre la investigación de estos autores y la presente, podría ser la causa de la disminución de las concentraciones de este compuesto en los huevos de gaviota. Este hecho también fue advertido por ¹¹¹Martínez-López *et al.* (2007) cuando analizaron huevos de dos especies de aves rapaces en la región de Murcia (Aguililla calzada y Azor). Por otro lado, comparando con otras aves piscívoras, nuestras concentraciones, en conjunto, fueron superiores a las encontradas por ¹⁷⁴Fängström *et al.* (2005) en huevos de Fulmar (*Fulmarus glacialis*) en el Atlántico Norte (2,8 µg/g peso lípidos), en el mismo rango que los niveles encontrados por ¹⁷⁵Jörundsdóttir *et al.* (2009) en Arao (*Uria aalge*), en el Noroeste de Europa y el Mar Báltico (1,1-16 µg/g peso lípidos) y por debajo de los encontrados por ¹⁷⁶Henriksen *et al.* (2000) en Gaviota hiperbórea (*Larus hyperboreus*) en el Mar de Barents (24,4 µg/g peso lípidos). No obstante, es interesante destacar que los niveles encontrados en esta tesis son similares a los encontrados por ¹⁷⁷Huertas *et al.* (2015) (660ng/g peso húmedo) en huevos de Garza imperial (*Ardea purpurea*) que nidificaban junto a una factoría en Huesca, en el río Cinca, en la que se estuvo produciendo dicofol hasta marzo de 2015, lo que provocó la contaminación de las aguas del río hasta tal punto que, las autoridades sanitarias, prohibieron la pesca al detectar en los peces altos niveles de DDT. Esto indicaría una exposición anormalmente alta de las Gaviotas de Audouin del Mediterráneo occidental a estos compuestos lo que explicaría la diferencia con colonias de la misma especie en el Mediterráneo oriental (¹⁷²Goutner, 2001). En nuestro caso, presumiblemente sería debida a la importante actividad agrícola intensiva desarrollada en la zona (¹⁷⁸Sánchez-Gelabert *et al.*, 2008).

El dieldrín fue encontrado en mayor concentración en los huevos de Isla Grosa que de la Isla Moltona ($t=7,528$, $p<0,01$). Los niveles encontrados en Isla Grosa ($\bar{x}=448,54$ ng/g)



superaron a los encontrados por ¹⁶⁸Martínez-López (2005) en Aguililla calzada y Azor en la Región de Murcia (Azor= no detectado; Aguililla calzada =192,54 ng/g peso lípidos) y fueron similares a los encontrados por ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) en huevos de Búho real de la misma región, recogidos en nidos de una zona con intensa actividad agrícola durante décadas (591,47 ng/g peso lípidos). Sin embargo, los niveles de dieldrín en los huevos de Búho real obtenidos en el sur de la Región de Murcia por ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) fueron significativamente inferiores (70,21 ng/g peso lípidos). Por otro lado se ha comprobado como la Gaviota de Audouin visita regularmente la flota de pesca de cerco ubicada en los puertos de Torre Vieja y Guardamar del Segura (⁷⁰03 NAT/E/000061 LIFE). Además, el patrón de exposición de dieldrín parece asociar los hábitos alimenticios de la Gaviota de Audouin más a la zona subalicantina que a la de Cartagena. Aunque se ha demostrado que el dieldrín puede persistir muchos años después de su prohibición (¹⁷⁹Martijn *et al.*, 1993), las concentraciones halladas son similares a las encontradas en aves rapaces en Estados Unidos hace más de 25 años (¹⁸⁰Henny *et al.*, 1983). No era esperable por tanto encontrar tan elevada persistencia de este tipo de compuesto en el ambiente en la Región de Murcia, más si cabe, cuando fue en 1994 el año en el que se prohibió su utilización en nuestro territorio junto con otras moléculas cloradas (¹⁸¹B.O.E. nº 41, 1993). El aldrin se convierte rápidamente en dieldrín en los organismos vivos. De hecho la mayoría del dieldrín encontrado en estos se debe a la metabolización de aldrin (¹⁸²IPCS, 1989). La vida media en el agua y suelo es similar en ambos compuestos (>2 años en agua y de 4 a 7 años en el suelo) (¹⁸²IPCS, 1989). En un estudio realizado en los años 80 por ¹⁸³Navarro *et al.* (1985), se estimó que la cantidad de organoclorados (α -HCH, γ -HCH, aldrin, p,p'-DDE y heptacloro), que el río Segura arrojaba al Mar en su desembocadura en Guardamar era de 28 kg al año. Se estima que esos vertidos no dejaron de sucederse hasta después del año 95, es decir hace 20 años, con lo que el hallazgo de este tipo de contaminantes en los seres vivos de la región de Murcia nos da una idea de la capacidad para acumularse en los organismos vivos merced a su capacidad para permanecer en el medio (aire, suelo y agua). ¹⁷¹Morales *et al.* (2012) no encontraron este compuesto en el Delta del Ebro ni en huevos de Gaviota de Audouin ni de Gaviota patiamarilla.

El HCB se encontró en ambas colonias de cría en concentraciones intermedias (\bar{x} =71,02 ng/g) respecto a otros estudios en huevos de gaviota de Audouin (tabla V.21). Así, estas fueron la tercera parte de las encontradas por ¹⁷³Pastor *et al.* (1995) en la misma especie en el Delta del Ebro en 1992 (20,8 ng/g peso húmedo) pero casi seis veces las encontradas por ¹⁷¹Morales *et al.* (2012) también en gaviota de Audouin del Delta del Ebro (1,5 ng/g peso húmedo) obtenidas 10 años después de nuestro estudio. Comparando nuestros datos con los de aves rapaces de la región de Murcia, nuestros



niveles fueron superiores a los encontrados en Búho real (29,34 ng/g peso lípidos) (¹²⁷Gómez-Ramirez *et al.*, 2012) y a los encontrados en Azor (niveles no detectados) y Aguililla calzada (5,13 ng/g peso lípidos) (¹⁶⁸Martínez-López, 2005). Por otro lado, fueron muy similares a los encontrados en huevos de Garza imperial por ¹⁷⁷Huertas *et al.* (2015), obtenidos en los años 2006 y 2007 (5,3-7,9 ng/g peso húmedo), en el Delta del Ebro (un medio acuático considerado contaminado por fuentes de contaminación de tipo agrícola e industrial), pero muy inferiores a los encontrados en huevos de otras aves marinas como el Fulmar del Atlántico Norte (330 ng/g peso lípidos) (¹⁷⁴Fängström *et al.*, 2005), Arao común en el noroeste de Europa y el Mar Báltico (260-310ng/g peso lípidos) (¹⁷⁵Jörundsdóttir *et al.*, 2009) o Gaviota hiperbórea del ártico noruego (205 ng/g peso lípidos).

Como ya ocurrió con otras aves en la región de Murcia (¹¹¹Martínez-López *et al.*, 2007; ¹²⁷Gómez Ramirez *et al.*, 2012) los compuestos ciclodiénicos sólo se detectaron en un huevo de la Isla Moltona que presentó una concentración de 84,29 ng/g de (peso lípidos) α -HCH.

Respecto de los PCBs detectados, el congéner más abundante fue el PCB 153, seguido del PCB 180 y del PCB 138. Esto está en consonancia con lo encontrado por otros autores en Gaviota de Audouin (¹⁶⁹González *et al.*, 1991; ¹⁷⁰Pastor *et al.*, 1995a,1995b, ¹⁷¹Morales *et al.*, 2012), en Gaviota patiamarilla (*Larus cachinans m.*) (¹⁸⁴Albanis *et al.*, 2003; ¹⁷¹Morales *et al.*, 2012) y en otras aves acuáticas como el Cormorán grande (*Phalacrocorax carbo*), Garza real (*Ardea cinérea*), Garceta común (*Egretta garzetta*) y Martinete (*Nycticorax nycticorax*) (¹⁸⁵Antoniadou *et al.*, 2007), e incluso en especies marinas piscívoras mamíferas como la Orca (*Orcinus orca*) (¹⁸⁶Ross *et al.*, 2000). Este patrón, parece deberse a la persistencia y a las propiedades bioacumulativas de esos congéneres que ha sido atribuido a su particular estructura caracterizada por la ausencia de enlaces libres de cloro en posiciones adyacentes meta y para en la estructura bifenilica (¹⁸⁷Walker, 1990; ¹⁵⁰Mineau *et al.*, 1984, ¹³³Furness, 1993). Por otro lado, el detectado con menor frecuencia fue el PCB 199 el cual solo se detectó en un huevo en Isla Grosa.

Mediante la realización de los test T de Student para aquellas variables que se ajustaban a una distribución normal y el test de Mann-Whitney para las no ajustadas, se encontraron diferencias entre ambas colonias para un total de 13 congéneres de los 21 detectados ($t_{\text{PCB } 138}=2,765, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 153}=3,736, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 156}=3,798, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 163}=3,304, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 170}=3,891, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 171}=3,368, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 180}=4,125, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 183}=4,125, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 187}=3,675, p<0,01$; $U_{\text{PCB } 189}=36, p<0,01$; $t_{\text{PCB}194}= 3,968, p<0,01$; $t_{\text{PCB } 201}= 3,901, p<0,01$; $U_{\text{PCB } 206}=56, p<0,05$). En la totalidad de los casos, las concentraciones de cada congéner fueron mayores en Isla Grosa que en Isla Moltona.



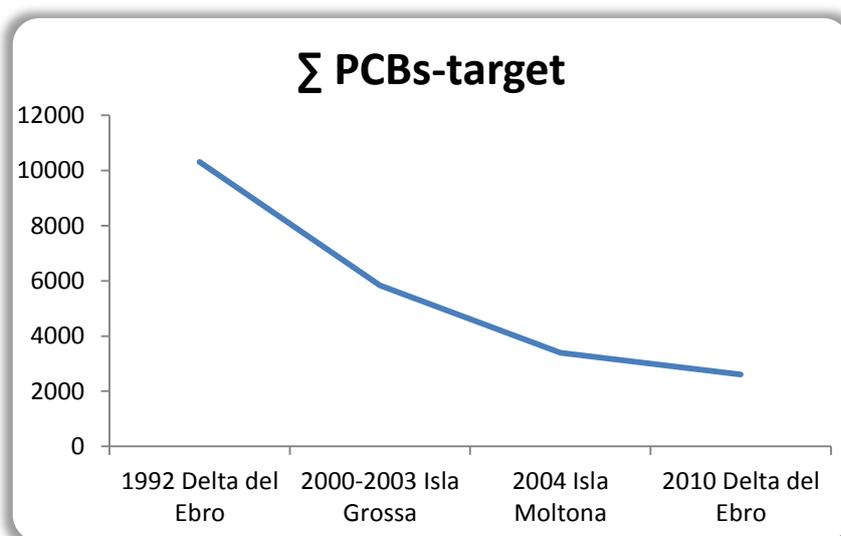
La concentración media total de PCBs encontrada en nuestro estudio para Isla Grosa ($\bar{X}=23720$ ng/g) (tabla V.21) fue del orden de 10 veces la encontrada por ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) en Búho real en la región de Murcia ($n_{\text{PCBs}}=22$; $\Sigma\text{PCBs}= 2569,26$ ng/g peso lípidos). Una mayor diferencia se puso de manifiesto cuando comparamos nuestros resultados con los niveles detectados por ¹⁷²Goutner *et al.* (2001), en huevos de Gaviota de Audouin ($\Sigma\text{PCBs}= 338-516$ ng/g peso lípidos), en 1997 y 1998 en el Mediterráneo oriental. ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) en su estudio, encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de PCBs en los huevos de Búho real de la zona norte y sierras subalicantinas y la zona sur (Cartagena), siendo mayores en esta última. Esta autora hipotetizó con la puesta en marcha de una empresa dedicada a la fabricación de plásticos tecnológicos (policarbonatos) en la Aljorra (Cartagena) en el año 1999 como la causa de la gran concentración de PCBs encontrada en los huevos de Búho real. Dicha planta se sitúa a 34 km. de Isla Grosa y a 21 del Mar Menor (laguna marina interior cuya conexión con Mar Mediterráneo se encuentra frente a esta Isla). Teniendo en cuenta que la rambla del Albuñón, que desemboca en el Mar Menor, discurre a escasos 700 metros de dicha factoría este también podría ser el origen de la contaminación por PCBs en los huevos de Gaviota de Audouin. No obstante esto necesita ser estudiado en mayor profundidad. También mencionar que en la zona, existen un gran número de transformadores eléctricos anteriores a 1986, fecha en la que la ¹⁸⁸Directiva 85/467/CEE de 1 de octubre prohibía el empleo de equipos nuevos de dieléctricos en base a PCBs (¹⁸⁹Sánchez-Gelabert *et al.*, 2008). Estos PCBs y el HCB detectado en este estudio, junto con dieldrín y DDE podrían tener un origen común, ya que se encontró una correlación positiva entre la concentración de alguno de estos compuestos en los huevos de Isla Grosa como se comenta en el apartado V.3.3.1.

Por otro lado, si consideramos solo los siete PCBs denominados “target” o “indicadores” (congéneres de PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 y 180) (¹⁹⁰Bachour *et al.*, 1998), las concentraciones encontradas en los huevos de Isla Grosa (1342,19 ng/g peso húmedo), fueron el doble de las encontradas por ¹⁷¹Morales *et al.* (2012), en el Delta del Ebro para la misma especie (599,74 ng/g peso húmedo), pero la mitad de las encontradas por ¹⁷⁰Pastor *et al.* (1995), para la misma especie 20 años antes. De hecho las concentraciones de PCBs indicadores de los huevos de Isla Grosa (5834,49 ng/g, peso seco), son intermedias respecto a las encontradas por ¹⁷⁰Pastor *et al.* (1995), en 1992 (10310 ng/g peso seco) y por ¹⁷¹Morales *et al.* (2012) (2607,57ng/g peso seco), en 2010. Si consideramos que la contaminación por PCBs indicadores es la propia del mar Mediterráneo occidental y no existen fuentes de contaminación específicas en cada colonia estudiada, se podría establecer un patrón de disminución del 50% de la contaminación por PCBs indicadores en el Mediterráneo occidental por cada periodo de



diez años (gráfico V.24). Como también se pudo constatar en nuestro estudio, las concentraciones detectadas en la colonia de Isla Moltona en el año 2004 (3393,52 ng/g peso seco) se situaron en valores intermedios entre los encontrados en Isla Grosa entre los años 2000-2003 y los encontrados por ¹⁷¹Morales *et al.* (2012) en el Delta del Ebro en 2010, lo que apoyaría esta hipótesis.

Gráfico V.24. Evolución de los PCBs indicadores en huevos de Gaviota de Audouin según diferentes estudios realizados sobre colonias reproductivas el Mediterráneo occidental. Los valores se expresan en ng/g peso seco. Los datos se han extraído de Pastor *et al.*, 1995; este estudio; Morales *et al.*, 2012.



A pesar de que la Gaviota de Audouin se puede alimentar a más de 40 Km de su colonia de cría (³⁹Becares *et al.*, 2015; ⁷⁰Proyecto Life 03/Nat/E/000061), algunos autores han observado como la carga de contaminantes presentes en los huevos de las gaviotas, delata que su alimentación también se realiza cerca de la colonia de reproducción (¹⁷²Goutner *et al.*, 2001).

Durante la temporada de cría de 2004 se estudió la dieta mediante análisis de regurgitaciones de los pollos durante su anillamiento, detectando que estas contenían principalmente Boga (*Boops boops*), un pez de superficie, y Sardina (*Sardina pilchardus*) (⁷⁰Proyecto Life 03/Nat/E/000061), peces que durante las noches de verano se acercan a la superficie del agua. En nuestro estudio no se han detectado congéneres ligeros de PCBs (di-, tri- y tetraclorados) más propios de aguas superficiales, plancton y peces de zonas con orígenes de contaminación difusa, como si observaron ¹⁷²Goutner *et al.* (2001) en Gaviota de Audouin que se alimentaban de Bogas en islas del Archipiélago Dodecaneso en el Mediterráneo oriental. ¹⁸⁵Antoniadou *et al.* (2007), comprobó cómo peces omnívoros, cuya gran parte de su dieta incluye plantas o invertebrados fitófilos, presentaban mayores porcentajes de PCBs ligeros que aquellos que se alimentan de zooplancton o zoobenthos, que presentan mayores porcentajes de congéneres pesados de PCBs (PCB



138, PCB 153). Tanto la Boga como la Sardina son especies omnívoras, aunque en el caso de Sardina, esta se alimenta principalmente de Cladoceros marinos y larvas de decápodos (Zooplankton), en verano (¹⁹¹Costalago y Palomera, 2014), lo que explicaría mayores concentraciones de PCBs pesados en sus tejidos. Además, los congéneres ligeros de PCBs son poco bioacumulables y más fácilmente metabolizables que los pesados, de ahí la dificultad para hallarlos en las muestras biológicas (¹⁷²Goutner *et al.*, 2001).

Tabla V.22. Concentraciones de PCBs en huevos no eclosionados de Gaviota de Audouin (ng/g, peso lípidos). (nd= no detectado). Los PCBs sombreados se corresponden con PCBs con estructura similar a las Dioxinas. Media±desviación estandar, mediana (mínimo-máximo).

	Isla Grosa (n=21)		Isla Moltona (n=9)	
	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (máx.-min)	$\bar{X} \pm sd$	Mediana (máx.-min)
PCB 101	261,10±180,30	227,38(nd ₍₁₎ -833,05)	188,42±86,38	205,98(nd ₍₁₎ -279,25)
PCB 105	243,37±114,65	199,74(84,61-575,42)	193,22±80,59	197,95(68,68-328,42)
PCB 118	984,47±417,22	877,83(397,21-2158,29)	698,11±210,17	782,94(268,07-988,03)
PCB 128	476,44±229,44	401,56(176,88-1047,14)	349,04±139,20	338,03(125,48-588,13)
PCB 138**	3037,97±1370,87	2847,78(1115,31-6367,56)	2011,83±659	2135,88 (753,17-2915,87)
PCB 149	196,52±164,45	134,70(nd ₍₁₎ -646,70)	111,62±119,29	nd(nd ₍₄₎ -313,31)
PCB 153**	6130,16±2639,99	5209,06(2098,71-11980,04)	3679,89±940,56	3896,11(1625,39-4645,99)
PCB 156**	538,37±200,91	502,71(216,47-966,61)	341,88±82,38	376,15(154,56-439,08)
PCB 157	80,45±36,82	68,66(nd ₍₂₎ -162,96)	59,25±21,56	67,91(nd ₍₂₎ -78,16)
PCB 163**	1010,01±425,04	932,39(425,11-2047,56)	651,01±169,69	709,00(270-838,56)
PCB 167	149,72±65,89	143,40(nd ₍₁₎ -310,43)	105,14±39,48	115(nd ₍₁₎ -161,32)
PCB 170**	1484,07±612,03	1313,21(568,76-2658,54)	895,75±212,74	987,09(395,22-1101,33)
PCB 171**	344,87±147,67	295,05(138,28-644,16)	218,56±57,56	234,89(92,66-286,10)
PCB 180**	4297,78±1791,28	3800,28(1630,65-7475,11)	2448,13±536,37	2584,58(1168,57-2882,42)
PCB 183**	982,80±408,58	893,46(383,37-1769,64)	570,59±135,32	630,21(269,61-699,58)
PCB 187**	2316,60±968,17	2085,45(1043,87-4458,54)	1421,80±341,86	1443,61(627,98-1721,06)
PCB 189**	67,24±41,68	69,51(nd ₍₈₎ -135,03)	nd	-
PCB 194**	541,08±207,65	502,05(236,38-937,53)	331,15±81,94	347,43(156,36-451,89)
PCB 199	54,84 ¹	nd(nd ₍₁₇₎ -54,84)	nd	-
PCB 201**	546,27±225,05	508,02(229,37-919,81)	326,10±83,42	336,08(136,34-423,36)
PCB 206*	55,86±41,33	nd(nd ₍₁₁₎ -138,89)	74,30 ¹	nd(nd ₍₈₎ -74,30)

** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,01$. (T de Student para muestras independientes).

* Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$. (T de Student para muestras independientes).

¹ Solo se detectó un huevo.



Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones totales de PCBs de Isla Grosa y de Isla Moltona ($t_{\text{Grosa-Moltona}} = 3,620$, $p < 0,01$), siendo mayores las concentraciones halladas en huevos de Isla Grosa. No obstante, se vio similitud en el mapa de congéneres de PCBs entre las dos colonias de cría de Gaviota de Audouin estudiadas, a pesar de la gran distancia existente entre ambas (199 millas náuticas) (gráfico V.25). Esta similitud fue mayor que entre dos especies de aves (Gaviota de Audouin y Búho real) de la región de Murcia (gráfico V.26), cuyos territorios son más cercanos, lo que indica que los congéneres de PCBs en los huevos podrían estar más relacionados con los recursos alimenticios que explota la especie y su posición trófica, que con el área geográfica en la que se encuentra su territorio. Señalar que, en algunas especies animales, existe una acumulación preferencial de cierto tipo de congéneres relacionado con su estructura. Por ejemplo, en los cetáceos se produce una retención selectiva de congéneres no coplanares como resultado de una baja actividad de la enzima citocromo P450 2B (CYP 2B) (¹⁹² Goksøyr, 1995; ¹⁹³ Norstrom *et al.*, 1992; ¹⁹⁴ Tanabe *et al.*, 1988; ¹⁹⁵ Watanabe *et al.*, 1989), lo que podría explicar la similitud entre las concentraciones en animales de la misma especie o grupo taxonómico.

En definitiva, a pesar de que algunos autores aseguran que los escenarios de exposición a contaminantes son colonia-dependientes (¹⁹⁶ Gebbink *et al.*, 2011), parece que este hecho sólo es válido cuando nos encontramos ante fuentes extraordinarias de contaminación o cuando animales de diferentes colonias explotan diferentes recursos. En nuestro caso, es muy posible que las diferencias entre ambas poblaciones de gaviotas estudiadas tengan más que ver con la temporalidad a la hora de obtener las muestras que con otros aspectos de tipo trófico.

Gráfico V.25. Mapa de congéneres de PCBs en las gaviotas de las colonias de reproducción de Isla Grosa e Isla Moltona.

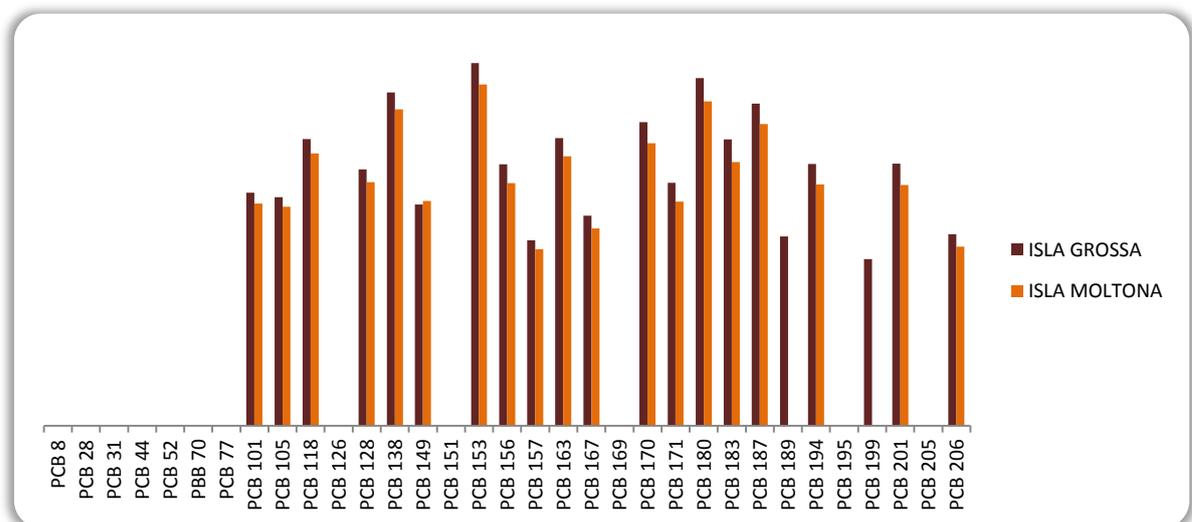
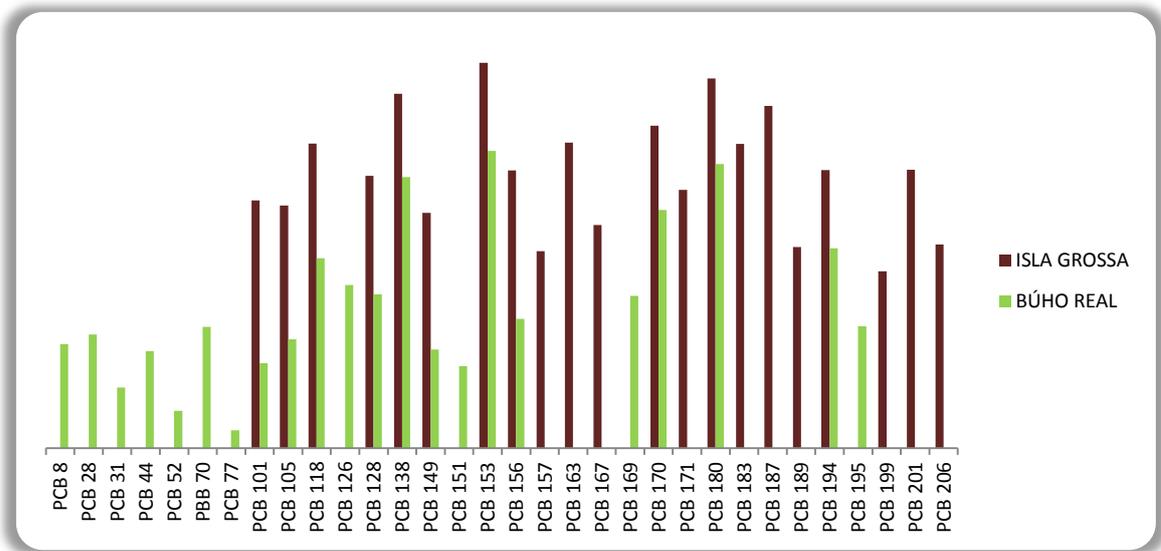




Gráfico V.26. Mapa de congéneres de PCBs en las gaviotas de la colonia de reproducción de Isla Grossa y Búhos reales del sureste de la región de Murcia (¹²⁷Gomez-Ramirez et al.,2012).



De los 209 congéneres de PCBs, una pequeña parte son considerados como "tipo dioxina" debido a su toxicidad y a ciertas características de su estructura que la hacen similar a la 2,3,7,8- tetraclorodibenzo-p-dioxina (2,3,7,8-TCDD) (¹⁹⁷Hoffman *et al.*, 1996). Se trata de aquellos congéneres de PCBs con 4 ó más átomos de cloro en las posiciones para y meta. Se piensa que estos congéneres adoptan una estructura más coplanar que aquellos con sustituciones sólo en la posición orto, alcanzando con más frecuencia similitudes con la altamente tóxica 2,3,7,8-TCDD (¹⁹⁷Hoffman *et al.*, 1996). Los compuestos relacionados, que actúan a través del mismo modo de acción, deberían producir los mismos efectos pero a diferentes concentraciones (¹⁹⁷Hoffman *et al.*, 1996). Así pues, las respuestas biológicas de PCBs coplanares (p.e. 77, 126, y 169) son similares a la de 2,3,7,8-TCDD, incluyendo edema, pérdida de peso, cambios en el hígado y el timo, embriotoxicidad, teratogenicidad e inmunotoxicidad (¹⁹⁸Tanabe, 1989). El factor de equivalencia tóxica (TEF) expresa la relativa toxicidad de determinados compuestos PCBs tomando como referencia a 2,3,7,8 -TCDD, al que se le asigna un TEF de 1. En este trabajo han sido usados algunos congéneres de PCBs (77, 81, 105, 114, 118, 123, 126, 156, 157, 167, 169 y 189) para calcular el factor tóxico equivalente (TEQs) usando los factores dados por la OMS (1997) y desarrollados por ⁵⁹⁷Van den Berg *et al.* (1998) para aves (tabla V.23). Sin embargo, la compleja naturaleza de las mezclas de dinbenzofuranos policlorados, PCBs y dibenzodioxinas policloradas que se dan en el escenario ambiental, complica notablemente la evaluación de los riesgos para las especies.



Tabla V.23. Valores de TEF determinados por la OMS (1997) en aves y ⁵⁹⁷Van den Berg et al. (1998).

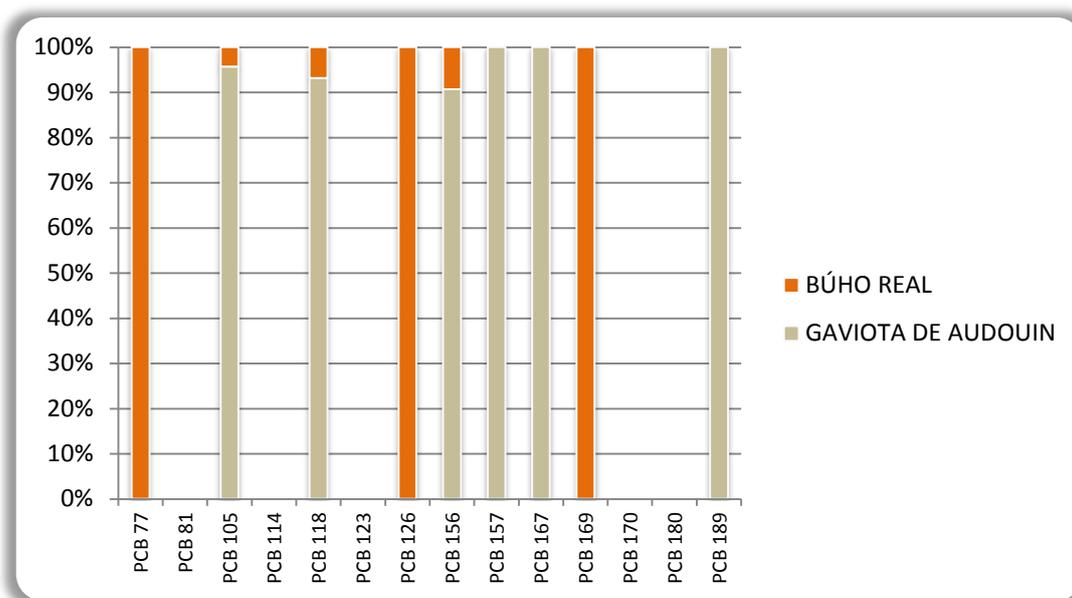
Congéneres	IUPAC Prefijos clorobifenilos	TEF Aves
PCB-77	3,3',4,4'-Tetra-	0.05
PCB-81	3,4,4',5-Tetra-	0.1
PCB-105	2,3,3',4,4'-Penta-	0.0001
PCB-114	2,3,4,4',5-Penta-	0.0001
PCB-118	2,3',4,4',5-Penta-	0.00001
PCB-123	2,3',4,4',5'-Penta-	0.00001
PCB-126	3,3',4,4',5-Penta-	0.1
PCB-156	2,3,3',4,4',5-Hexa-	0.0001
PCB-157	2,3,3',4,4',5'-Hexa-	0.0001
PCB-167	2,3',4,4',5,5'-Hexa-	0.00001
PCB-169	3,3',4,4',5,5'-Hexa-	0.001
PCB-170	2,2',3,3',4,4',5-Hepta-	--
PCB-180	2,2',3,4,4',5,5'-Hepta-	--
PCB-189	2,3,3',4,4',5,5'-Hepta-	0.00001

Seis de estos congéneres han sido detectados en los huevos de Gaviota de Audouin estudiados (PCB 105, PCB 118, PCB 156, PCB 157, PCB 167 Y PCB 189). Las concentraciones totales de estos congéneres en Isla Grosa (192,95 ng/g peso húmedo), fue más del doble de la detectada en huevos de la misma especie en el Delta del Ebro (¹⁷¹Morales *et al.*, 2012), en los que se detectaron 12 congéneres de PCBs de este tipo. Por otro lado, las concentraciones de los TEQs totales en Isla Grosa (97,92±39,68 pg/g peso lípidos) fueron significativamente superiores a las encontradas en Isla Moltona (66,94±20,56 pg/g peso lípidos) ($t_{\text{Grosa-Moltona}}=2,20$, $p<0,05$). El patrón de TEQs fue el mismo para las dos localizaciones excepto para el PCB 189 que no fue detectado en Isla Moltona. Los máximos niveles de TEQ en ambas localizaciones correspondieron a PCB 156 (53,83 pg/g y 34,18 pg/g, peso lípidos para Isla Grosa e Isla Moltona respectivamente). El PCB 126 es considerado, en términos de mortalidad embrionaria aviar, como el PCB-TEQ más tóxico seguido del 77, 169 y 105 (Brunström, 1990). Excepto el PCB 105, ninguno de estos congéneres fue detectado. El PCB 105 presentó concentraciones medias de TEQs de 24,33 pg/g (peso lípidos) en Isla Grosa y de 19,32 pg/g (peso lípidos) en Isla Moltona. Las concentraciones del total de TEQs en cada una de las Islas fueron muy inferiores a las encontradas por ¹⁷¹Morales *et al.* (2012) en el Delta del Ebro (522 pg/g peso lípidos). Esto se debió a que estos autores, como ya se ha



señalado, detectaron 12 de los 14 congéneres denominados (dioxin-like) mientras en nuestro estudio se detectaron 6 en Isla Grosa y solo 5 en Isla Moltona. También el mapa de TEQs detectado en Isla Grosa fue diferente al encontrado por ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) en búhos reales de la región de Murcia (gráfico V.27), lo que nos muestra un diferente patrón de exposición en ambas especies a pesar de localizarse en la misma área geográfica.

Gráfico V.27. Gráfica comparativa de TEQs entre dos especies de aves de la región de Murcia.



V.3.3.1 ESTUDIO DE LAS RELACIONES ENTRE ORGANOHALOGENADOS Y ÉXITO REPRODUCTIVO.

En nuestro estudio sobre los huevos de Isla Grosa, encontramos correlaciones positivas y significativas ($p < 0,01$) entre Σ PCBs y HCB, dieldrin y DDE; y entre DDE, HCB y dieldrin (tabla V.24).

Tabla V.24. Correlaciones entre Organoclorados en huevos de Isla Grosa.

	DDE	HCB	Dieldrín
Σ PCB's	0,903	0,705	0,605
DDE		0,626	0,574

Ninguno de los compuestos analizados pareció tener una influencia negativa sobre la productividad de la colonia por sí mismo y, curiosamente, encontramos una correlación positiva entre la concentración de dieldrín y la productividad ($P_{\text{dieldrin-productividad}} = 0,654$; $p < 0,01$).

La relación entre Σ PCBs y DDE ya ha sido observada por otros autores en huevos de animales silvestres como el cormorán orejado (¹⁹⁹Custer *et al.*, 1999), Pelicano pardo (*Pelecanus occidentalis*) (²⁰⁰Blus *et al.*, 1974) o el Pigargo americano (²⁰¹Wiemeyer *et al.*,



1984). Una fuerte correlación entre los diferentes contaminantes puede atribuir efectos sobre la reproducción a uno de los contaminantes que no le correspondan. Así ¹⁹⁹Custer *et al.* (1999) comprobaron cómo los efectos sobre la reproducción que se atribuían a los PCBs en otros estudios realizados con anterioridad en realidad podrían deberse a las concentraciones de DDE. En nuestro caso no hemos encontrado ninguna correlación significativa entre la productividad y las concentraciones de halogenados. Esto podría ser debido principalmente a que las concentraciones de organoclorados y PCBs en los huevos de Gaviota de Audouin de nuestro estudio no fueron lo suficientemente altas. De hecho, ²⁰²Newton (1988) estableció que a partir de 700 ng/g peso húmedo de dieldrín, en huevos, serían capaces de producir declives poblacionales en Halcón peregrino. En nuestro caso, ningún huevo de Isla Grosa superó los 90 ng/g peso húmedo. Pero además, comprobamos que conforme aumentaba la productividad de la colonia, aumentaba la concentración de este compuesto en los huevos. Puede ser que este hecho sea fortuito y motivado por la baja concentración de este compuesto en los huevos analizados. Por otro lado, ²⁰³Strause *et al.* (2007) establecieron como NOAEC para el Σ DDTs en Búho americano (*Bubo virginianus*) un umbral de 3600 ng/g peso húmedo y de 7000 ng/g para el total de PCBs. En nuestro estudio, ningún huevo superó el valor de 2000 ng/g peso húmedo para Σ DDTs ni de 4000 ng/g peso húmedo para el total de PCBs.

En el estudio realizado en 1992 por ¹⁷³Pastor *et al.* (1995) en Gaviota de Audouin en el Delta del Ebro mencionado anteriormente, se encontraron concentraciones de 4610 ng/g peso seco de DDE en huevos. En ese año la productividad de la colonia de Gaviota de Audouin de Punta de la Banya (Delta del Ebro) fue de 0,6 pollos/pareja (²⁰⁴Bertolero *et al.*, 2009). Excepto para el año 2003 (1,7 pollos/pareja), la productividad no difirió de la encontrada en Isla Grosa durante nuestro estudio (año 2000=0,61 pollos/pareja; año 2001=0,63 pollos/pareja) (²⁰⁵Sánchez *et al.*, 2000; ²⁰⁶Blanco *et al.*, 2001; ²⁰⁷Eguía, 2002), a pesar de que nuestras concentraciones de DDE son más bajas (3178 ng/g peso seco). No cabía esperar disparidad entre las productividades de ambas colonias merced a diferencias tan sutiles respecto a la concentración de DDE. Este hecho nos hace plantearnos la importancia de la exposición a este contaminante en la reproducción de la Gaviota de Audouin, a pesar de que las concentraciones de DDE en nuestro estudio (730 ng/g peso húmedo) fueron muy inferiores a las descritas en otras aves acuáticas a las que causaron fallos reproductivos. Por ejemplo, en Cormorán orejudo estos niveles se situaron en torno a 3900 ng/g (¹⁹⁹Custer *et al.*, 1999), en Pigargo americano y Pelicano pardo >2500 ng/g (²⁰⁸Nisbet 1989; ²⁰⁰Blus *et al.*, 1974), > 4000 ng/g en Ibis de cara blanca (*Plegadis chihi*) (²⁰⁹Henny *et al.*, 1989) y en rayador americano (*Rynchops niger*) > 6000 ng/g (²¹⁰Custer *et al.*, 1987).



Está bien documentada la relación entre el grosor de la cáscara y la concentración de DDE en huevos. De hecho, ¹¹¹Martínez-López *et al.* (2007) encontraron una disminución en el grosor de la cáscara del 7% en huevos de Aguililla calzada que presentaban concentraciones de 14,23 µg/g de DDE en peso de lípidos, estableciendo como nivel sin efecto (NOAEL) la concentración de 11,80 µg/g en peso de lípidos. En nuestro estudio solo 8 huevos, de 21, superaron ese límite en Isla Grosa y se observó una correlación negativa estadísticamente significativa entre la concentración de DDE y el grosor de la cáscara en estos huevos (Pearson= -0,839, $p < 0,1$). ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.* (2012) sin embargo, encontraron disminuciones del 17% del grosor de la cáscara en Búho real con concentraciones de p,p'-DDE superiores a 100 µg/g, niveles 10 veces superiores a los obtenidos en el presente estudio. Nuestras concentraciones se encuentran muy alejadas de esos niveles y del NOAEC de 12 µg/g peso húmedo establecido por ²¹¹Mendenhall *et al.* (1983) para lechuzas alimentadas experimentalmente con dietas enriquecidas con DDE o las concentraciones en huevos de 7 µg/g peso húmedo descritas por ²¹²Newton y Bogan (1974) en Gavilán (*Accipiter nissus*). En el estudio de ¹¹¹Martínez-López y colaboradores (2007) el 50% de los huevos analizados en Aguililla calzada excedía los 1000 ng/g peso húmedo que, ²¹³Mañosa *et al.* (2003) consideraron, podían provocar disminución del grosor de la cáscara en azores y aun así no encontraron una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de p,p'-DDE y el grosor de la cáscara. En nuestro estudio solo 5 huevos (16,6%) superaban ese nivel. Cabe la posibilidad que las bajas concentraciones encontradas por nosotros, inferiores a las detectadas para aves carnívoras más relacionadas con medios agrícolas, muy antropizados, sea determinante a la hora de establecer de forma estadísticamente significativa dicha relación negativa entre contaminante y grosor de cáscara. No obstante, ¹⁹⁹Custer *et al.* (1999) comprobaron cómo la disminución en el éxito reproductivo en Cormorán orejado (*Phalacrocorax auritus*) estaba más relacionado con las concentraciones de DDE que con el adelgazamiento de la cáscara del huevo. Este hecho también fue observado en Charrán común (*Sterna hirundo*) (²¹⁴Fox, 1976) y Pigargo americano (²⁰⁸Nisbet, 1989).

Por otro lado, la disminución del grosor de cáscara de huevo puede verse reflejado en alteraciones estructurales, tal como comprobaron ¹¹⁷González e Hiraldo (1988) en la cáscara del huevo de Águilas imperiales ibéricas (*Aquila adalberti*). En dicho estudio concentraciones de DDE de 2,19 µg/g peso fresco se manifestaron con un adelgazamiento de la cáscara de un 12,6%, principalmente por la disminución del grosor de la capa mamilar. También encontraron diferencias en el grado de cristalización entre cáscaras de huevos de épocas anteriores al uso del DDT (1841-1906) y recientes, y sobre todo la aparición de lo que ellos denominaron “esferulitas” sobre la cutícula, unas concreciones calcáreas de forma globular que eran más frecuentes en huevos con mayores



concentraciones de DDE. Dichas concreciones, que podrían corresponderse con vaterita, carbonato cálcico polimórfico que se forma por la adición de fosfato al fluido oviductal durante la fase final de la formación de la cáscara (²¹⁵Tullet *et al.*, 1976), son frecuentes en diversas especies de aves pero, al parecer, no en gaviotas (²¹⁶Tharapoom, 2006). A diferencia de lo observado por ¹¹⁷González e Hiraldo (1988) en huevos de Águila imperial, en las cáscaras de huevo de Isla Grosa no encontramos presencia de vaterita en la cutícula ni defectos de cristalización en la zona en empalizada. Tampoco observamos presencia de cavidades en la zona mamilar como ocurría con huevos no viables de Halcones de cola roja (*Buteo jamaicensis*), por la exposición a diferentes contaminantes como PCBs y DDE (¹²⁹Springer, 1980) (foto V.4).

Como ya se ha mencionado, los compuestos “dioxin-like” se han asociado a mortalidad embrionaria. Este efecto fue observado cuando las concentraciones medias de TEQs excedían de 300-350 pg/g peso húmedo en colonias de cormoranes orejudos (²¹⁷Hong *et al.*, 1998; ¹⁹⁹Custer *et al.*, 1999). En nuestro estudio, la mayor concentración de TEQs se encontró en un huevo de Isla Grosa en el año 2003 (14,33 pg/g peso húmedo), muy inferior al NOAEC, para el total TEQs, establecido para Búho americano de 135 pg/g peso húmedo. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones totales de TEQs debidas al grado de desarrollo embrionario del huevo.

El PCB 126 es considerado, en términos de mortalidad embrionaria aviar, como el PCB-dioxin-like más tóxico seguido del 77, 169 y 105 (²¹⁸Brunström, 1990). ²¹⁹Powell *et al.* (1996) observaron una relación positiva entre los niveles de PCB 126 y la aparición de anomalías y mortalidad en estudios realizados en huevos de gallinas. En este sentido, ²²⁰Jin *et al.* (2001) también señalan un aumento de la mortalidad, malformaciones y un menor tamaño en los embriones de ánade real. Este PCB no fue detectado en los huevos de Gaviota de Audouin pero si en otras aves terrestres de la región de Murcia (¹¹¹Martínez-López *et al.*, 2007; ¹²⁷Gómez-Ramírez *et al.*, 2012).

En cuanto a los siete PCBs considerados “target” o “indicadores” (¹⁹⁰Bachour *et al.*, 1998), Dirksen *et al.* (1995) comprobaron cómo en Cormorán orejudo el porcentaje de huevos eclosionados descendía un 40% cuando las concentraciones totales de estos PCBs pasaban de 8.000 ng/g a 16.000 ng/g peso húmedo. En nuestro estudio los niveles de los PCBs “target” no llegaron a 1.400 ng/g peso húmedo.

A pesar de todo lo expuesto, dadas las fuertes correlaciones detectadas entre casi todos los compuestos investigados, el estudio de los efectos sinérgicos sobre la reproducción debería ser abordado en trabajos posteriores ya que la baja productividad de algunos años en la colonia de Isla Grosa (2000 y 2001) puede ser sustentada por dicha sinergia.

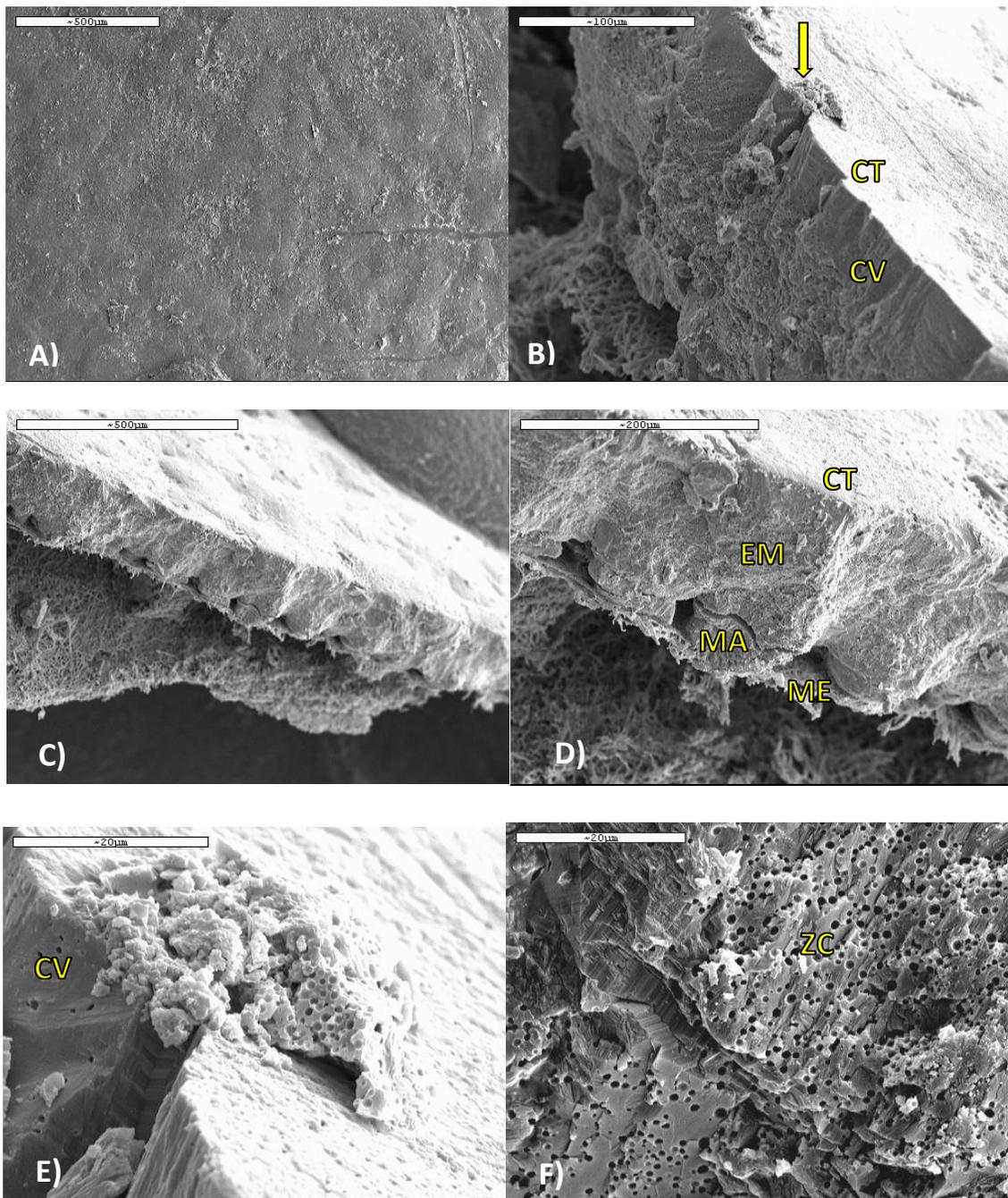


Foto V.4. . Imágenes, mediante microscopía electrónica, de la estructura de la cáscara de huevo de Gaviota de Audouin de Isla Grosa. A) Superficie del huevo (cutícula) en la que se puede comprobar la ausencia de acúmulos de vaterita. B) Visión de la cutícula (CT) con la presencia de poros (flecha). C) y D) Cutícula (CT), región en empalizada (EM), capa mamilar (MA) y membranas de la cáscara (ME). E) capa de cristales verticales de la zona en empalizada (CV) y detalle del poro de la imagen B). F) Zona central de la región en empalizada la cual presenta mayor cantidad de vesículas de gas que la capa de cristales verticales.



V.4. METALES PESADOS (Cd, Pb, Cu, Zn Y Hg) EN PLUMAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL.

La emisión de metales al medio ambiente es un hecho cotidiano íntimamente relacionado con los procesos productivos y la actividad del ser humano. Estos contaminantes, tienen la capacidad de bioacumularse en los diferentes compartimentos biológicos y biomagnificarse a lo largo de la cadena alimentaria hasta llegar, incluso, a nivel del ser humano (²²¹Dudka y Miller, 1999; ²²²Jarup, 2003; ²²³Metcheva *et al.*, 2010). Debido al riesgo potencial que estos contaminantes representan para la salud de los ecosistemas, es necesario poner a punto técnicas capaces de monitorizar su presencia en el medio ambiente (²²⁴Lodenius y Solonen, 2013).

Algunos de estos metales pesados tienen como característica una alta capacidad para bioacumularse en los tejidos de los animales y biomagnificarse a lo largo de la cadena alimentaria, como el mercurio y el cadmio (²²⁴Lodenius y Solonen, 2013). Otros (zinc y cobre), no exhiben estas características al encontrarse regulados por el propio organismo (²²⁵Adriano, 2001).

Aunque la medida directa de las concentraciones de metales pesados en tejidos internos y sangre de aves es el mejor indicador del grado y tipo de exposición (¹³García - Fernández *et al.*, 1997), existen problemas de índole ético para la obtención de las muestras, sobre todo cuando tratamos con especies consideradas en peligro o sensibles, por lo que otra manera de obtener muestras útiles debe ser tenida en cuenta. Así por ejemplo, plumas, huevos, excrementos, alimento regurgitado, etc., podrían ser útiles para estudiar la exposición a metales en aves (²²⁶Burger y Gochfeld 2000, ²²⁷Dauwe *et al.*, 2000). El conocimiento de niveles de contaminantes en este tipo de muestras y su relación con efectos sobre la supervivencia, reproducción o cualquier otro tipo de disrupción, resulta interesante para comprender fenómenos de disminución de efectivos poblacionales e incluso de extinción en aves silvestres.

Según ²²⁸Furness y Greenwood (1993), las plumas pueden ser consideradas una alternativa a la recolección de tejidos internos, pudiéndose obtener en animales vivos, respetando de esta forma la integridad del individuo y sin provocar daños a la población. Los resultados han demostrado su utilidad en la monitorización de mercurio y plomo (²²⁹Appelquist *et al.*, 1984; ²³⁰Burger y Gochfeld, 1993), mientras que han sido contradictorios para el cadmio (²³¹Rose y Parker, 1982; ²³²Fasola *et al.*, 1998; ²²⁷Dauwe *et al.*, 2000).

No obstante, hay que tener en cuenta factores tales como la variación en las concentraciones de contaminantes entre diferentes plumas del mismo animal e incluso



entre distintas partes de la misma pluma, el patrón de muda, los cambios de dieta durante la muda, etc., ya que estos pueden afectar a los resultados obtenidos (²³³Furnes *et al.*, 1986; ¹³³Furness, 1993; ⁸⁶Martínez-López *et al.*, 2005; ²³⁴García-Fernández *et al.*, 2013). Es por esto, que la elección de la pluma a estudiar es un factor importante a tener en cuenta.

La concentración de metales en plumas, es proporcional a la de los tejidos internos (²³⁵Burger y Gochfeld, 1996) ya que durante la formación de las mismas, los metales se movilizan llegando a ellas a través de la sangre (²²⁷Dauwe *et al.*, 2000; ²³⁶Fournier *et al.*, 2002), unidas a los grupos sulfhidrilo que contienen queratina (²²⁷Dauwe *et al.*, 2000). También nos muestran el grado de exposición reciente a contaminantes de origen alimentario ya que el aumento postapandrial de la concentración en sangre, es seguida de una deposición en la pluma en formación (²³⁶Fournier *et al.*, 2002; ²³⁷Burger *et al.*, 2009). Una vez que las plumas maduran, la conexión vascular se atrofia y la concentración de metales en plumas, proporcional a la concentración en sangre a la hora de la formación de éstas, permanece constante (²³⁸Braune y Gaskin, 1987; ²³⁹Burger y Gochfeld, 2000 ; Fournier *et al.*, 2002). Por tanto, la concentración de metales en plumas nos aporta información sobre la concentración a nivel sanguíneo durante el tiempo que dura la muda en adultos o el emplume de los pollos (²⁴⁰Jaspers *et al.*, 2004).

En el caso de los pollos nos aportará información relacionada con el proceso de cría, principalmente de su alimentación (²⁴¹Goutner *et al.*, 2000; ²³⁶Fournier *et al.*, 2002; ³⁷García-Tarrasón, 2013).

Debido a que la gaviota adulta muda su plumaje tras la sesión reproductiva, justo antes de iniciar su viaje a los cuarteles de invierno, sus plumas presentarán información respecto de aquel preciso momento. Por tanto, la pluma de los pollos nos da información sobre la exposición a contaminantes del periodo de cría del año de calendario en el que se toma la muestra y la de sus padres del periodo “postnupcial” del año anterior, una vez finalizado el periodo de cría.

En el presente estudio se estudiaron plumas primarias de adultos, encontrados muertos en las diferentes colonias de cría y plumas interescapulares de pollos vivos de las mismas colonias aunque, por tratarse de aves coloniales, no se pudo establecer un nexo de parentesco entre los cadáveres de adultos y pollos muestreados.

Las muestras procedentes de Isla Grosa, Delta del Ebro y Torrevieja se obtuvieron en diferentes años. Así las muestras recogidas en Isla Grosa se corresponden con los años 2002, 2003 y 2004, las recogidas en el Delta del Ebro se corresponden con el año 2004 y las recogidas en Torrevieja se corresponden con el año 2011.



V.4.1. ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES EN PLUMAS DE LAS DIFERENTES COLONIAS.

Aunque los resultados nos podían dar información sobre el grado de exposición de cada colonia respecto a cada uno de los metales estudiados, antes de comenzar al estudio de los datos obtenidos se decidió comprobar si existían diferencias significativas entre las concentraciones encontradas entre pollos y adultos en cada una de las colonias. Esto nos permitiría decidir si comparábamos el grado de exposición simplemente entre colonias o si teníamos que estudiar cada grupo de edad por separado.

Los resultados obtenidos para las concentraciones de metales en las diferentes colonias sin distinción de edades se muestran en la tabla V.25.

Tabla V.25. Concentraciones de metales pesados en plumas de Gaviota de Audouin en Isla Grosa, Torrevieja y Delta del Ebro (datos de toda la población). Las concentraciones de los metales se expresan en mg/kg, excepto para el cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo), nd=no detectado.

Metales	ISLA GROSA			DELTA DEL EBRO			TORREVIEJA		
	n	$\bar{X}\pm\text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X}\pm\text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X}\pm\text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	20	12,70 \pm 10,86	9,74 (0,34-38,98)	22	13,73 \pm 18,0	9,89 (0,33-87,72)	16	4,34 \pm 9,25	2,09 (nd ₍₇₎ -38,13)
Pb	21	0,82 \pm 0,52	0,76 (0,13-2,63)	22	0,42 \pm 0,26	0,41 (0,08-0,93)	16	0,77 \pm 0,76	0,53 (0,08-3,15)
Cu	21	8,96 \pm 3,75	7,9 (0,59-18,02)	22	6,29 \pm 3,81	4,65 (2,53-15,88)	16	6,12 \pm 2,13	5,72 (3,4-11,28)
Zn	21	88,67 \pm 54,41	67,11 (32,85-227,16)	22	43,89 \pm 16,78	43,56 (20,63-75,79)	16	38,29 \pm 23,01	37,95 (3,06-88,98)
Hg	21	5,33 \pm 1,9	5,27 (2,27-9,94)	9	4,96 \pm 3,46	2,75 (1,81-11,55)	67	7,85 \pm 7,40	5,81 (2,51-42,07)

Todos los metales fueron detectados en todas las muestras. El metal detectado en mayor concentración fue el zinc en Isla Grosa (227,16 mg/kg), y el detectado en niveles más bajos fue el cadmio en Torrevieja (<0,025 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Se desestimó un individuo con valores de cadmio superiores a 194 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para el tratamiento estadístico con dicho metal.

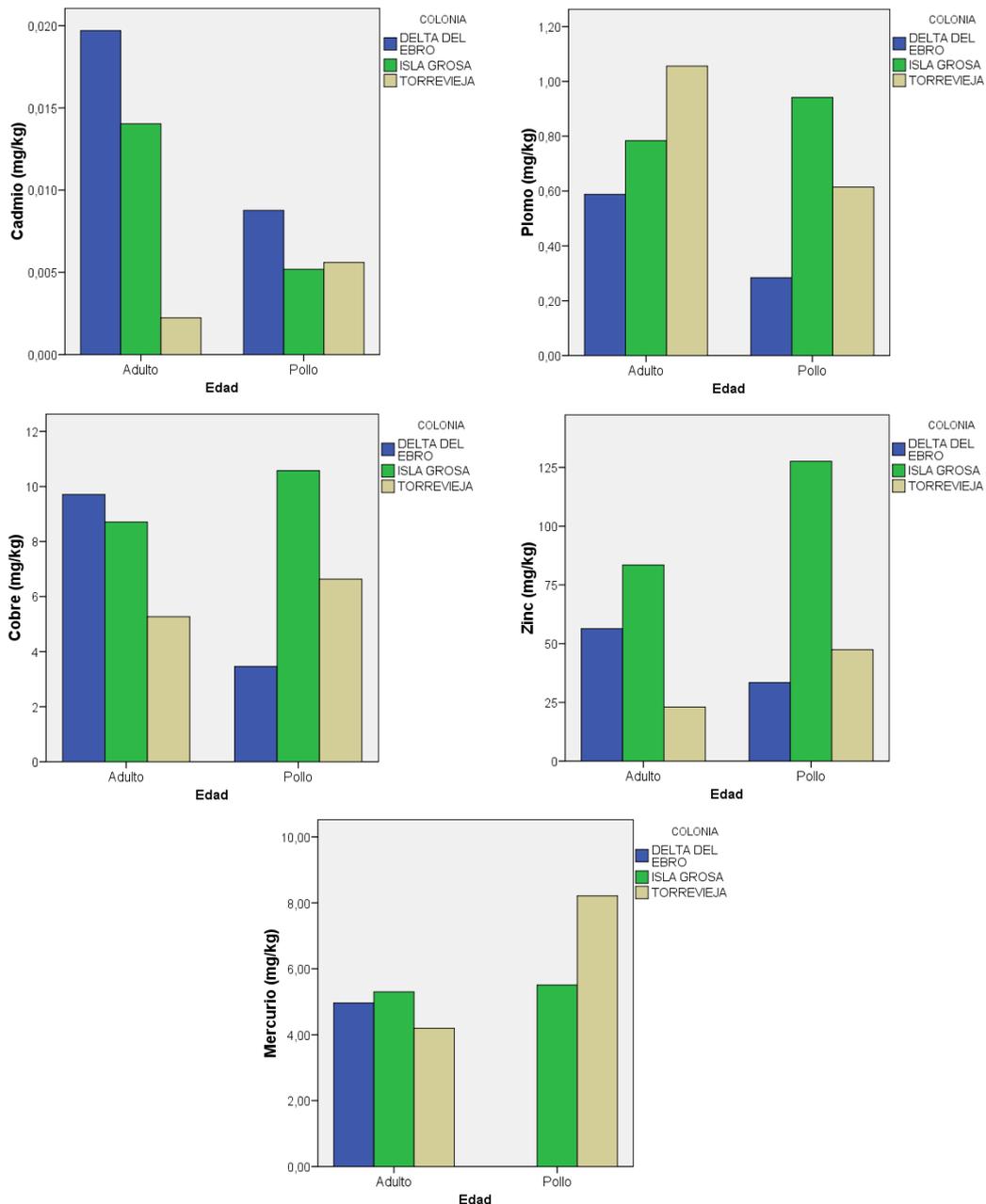
V.4.2. ANÁLISIS DE CADA COLONIA POR GRUPOS DE EDAD.

Tras estudiar los resultados obtenidos en los análisis por grupos de edad (pollos y adultos) de cada colonia, comprobamos que la mayor concentración para el cadmio lo presentaban las gaviotas adultas y los pollos del Delta del Ebro ($\text{Cd}_{\bar{x}\text{adultos}} = 19,69 \mu\text{g}/\text{kg}$ y $\text{Cd}_{\bar{x}\text{pollos}} = 8,77 \mu\text{g}/\text{kg}$); para el plomo los adultos de Torrevieja ($\text{Pb}_{\bar{x}\text{adultos}} = 1,05 \text{ mg}/\text{kg}$) y los pollos de Isla Grosa ($\text{Pb}_{\bar{x}\text{pollos}} = 0,94 \text{ mg}/\text{kg}$); para el cobre los adultos del Delta del Ebro ($\text{Cu}_{\bar{x}\text{adultos}} = 9,70 \text{ mg}/\text{kg}$) y los pollos de Isla Grosa ($\text{Cu}_{\bar{x}\text{pollos}} = 10,57 \text{ mg}/\text{kg}$), para el zinc los



adultos y los pollos de Isla Grosa ($Zn_{\bar{x}adultos} = 82,19 \text{ mg/kg}$ vs $Zn_{\bar{x}pollos} = 127,56 \text{ mg/kg}$) y para el mercurio los adultos de Isla Grosa ($Hg_{\bar{x}adultos} = 5,30 \text{ mg/kg}$) y los pollos de Torrevieja ($Hg_{\bar{x}pollos} = 8,21 \text{ mg/kg}$) (gráfico V.28).

Gráfico V.28. Concentraciones medias de los diferentes metales estudiados en los dos grupos de edad por localidades. (mg/kg).



Analizando cada colonia por separado, mediante la realización de una prueba ANOVA unifactorial para comparar las distintas poblaciones, se observa que cada colonia se comporta de una manera diferente en cuanto a las concentraciones de metales tanto en plumas de adultos como de pollos. Así, para las muestras de plumas recogidas de pollos y adultos en Isla Grosa durante las temporadas de cría de 2002 a 2004, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de edad (tabla V.26).



Tabla V.26. Concentraciones de metales pesados en plumas de adultos y de pollos de menos de 25 días de Gaviota de Audouin en Isla Grosa años 2002,2003 y2004. Las concentraciones de los metales se expresan en (mg/kg) excepto para el Cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo).

Metales	POLLOS			ADULTOS		
	n	$\bar{X} + \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} + \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	3	5,19 \pm 4,30	6,66 (0,34-8,56)	17	14,03 \pm 11,20	11 (1,43-38,98)
Pb	3	0,94 \pm 0,33	0,97 (0,59-1,26)	18	0,80 \pm 0,55	0,76 (0,13-2,63)
Cu	3	10,57 \pm 4,68	9,93 (6,23-15,54)	18	8,70 \pm 3,66	7,82 (0,59-18,02)
Zn	3	127,56 \pm 42,40	110,92 (95,99-175,75)	18	82,19 \pm 53,23	64,72 (32,85-227,16)
Hg	3	5,51 \pm 0,61	5,51 (4,90-6,12)	18	5,30 \pm 2,06	4,89 (2,27-9,94)

Por el contrario, se observa que en la colonia de Torrevieja los niveles son significativamente superiores en pollos que en adultos, tanto de zinc ($\text{Zn}_{\bar{x}\text{pollos}}=47,45$ vs $\text{Zn}_{\bar{x}\text{adultos}}=23,02$ mg/kg; $p=0,034$) como de mercurio ($\text{Hg}_{\bar{x}\text{pollos}}=8,21$ vs $\text{Hg}_{\bar{x}\text{adultos}}=4,19$ mg/kg; $p=0,038$) (tabla V.27).

Tabla V.27. Concentraciones de metales pesados en plumas de adultos y de pollos de menos de 25 días de Gaviota de Audouin de Torrevieja año 2011. Las concentraciones de los metales se expresan en (mg/kg) excepto para el Cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo), nd= no detectado.

Metales	POLLOS			ADULTOS		
	n	$\bar{X} + \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} + \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	10	5,60 \pm 11,63	1,96 (nd ₍₃₎ -38,134)	6	2,23 \pm 2,16	2,26 (nd ₍₄₎ -5,84)
Pb	10	0,61 \pm 0,52	0,43 (0,08-1,51)	6	1,05 \pm 1,06	0,62 (0,38-3,15)
Cu	10	6,63 \pm 2,54	6,21 (3,40-11,28)	6	5,26 \pm 0,83	5,40 (3,90-6,16)
Zn	10	47,45 \pm 21,91	48,49 (12,37-88,98)	6	23,02 \pm 16,65	21,83 (3,06-46,94)
Hg	61	8,21 \pm 7,65	5,82 (2,55-42,07)	6	4,19 \pm 1,72	3,95 (2,73-7,44)

Sin embargo, analizando las muestras del Delta del Ebro tomadas en 2004, los niveles fueron significativamente superiores en adultos que en pollos respecto al plomo ($\text{Pb}_{\bar{x}\text{pollos}}= 0,28$ vs $\text{Pb}_{\bar{x}\text{adultos}}= 0,58$ mg/kg; $p=0,04$), cobre ($\text{Cu}_{\bar{x}\text{pollos}}= 3,46$ vs $\text{Cu}_{\bar{x}\text{adultos}}= 9,70$ mg/kg; $p<0,01$) y zinc ($\text{Zn}_{\bar{x}\text{pollos}}= 33,46$ vs $\text{Zn}_{\bar{x}\text{adultos}}= 56,40$ mg/kg; $p<0,01$), no hallándose diferencias para el metal cadmio (tabla V.28).



Tabla V.28. Concentraciones de metales pesados en plumas de adultos y de pollos de menos de 25 días de Gaviota de Audouin del Delta del Ebro año 2004. Las concentraciones de los metales se expresan en (mg/kg) excepto para el Cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo). NA: no analizado.

Metales	POLLOS			ADULTOS		
	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	12	8,77 \pm 5,98	9,46 (0,33-19,11)	10	19,69 \pm 25,30	10,59 (4,35-87,72)
Pb	12	0,28 \pm 0,23	0,17 (0,08-0,79)	10	0,58 \pm 0,18	0,58 (0,35-0,93)
Cu	12	3,46 \pm 0,79	3,30 (2,53-5,01)	10	9,70 \pm 3,09	8,62 (5,81-15,88)
Zn	12	33,46 \pm 12,98	29,60 (20,63-67,68)	10	56,40 \pm 11,50	54,45 (37,51-75,79)
Hg	0	NA	NA	9	4,96 \pm 3,46	2,75 (1,81-11,55)

En este caso no se pudo comparar el metal mercurio al carecer de muestra de plumas de pollos. No obstante, ese mismo año, en un estudio realizado con plumas de pollos del Delta del Ebro, ²⁴²Sanpera *et al.* (2007), encontraron concentraciones medias de mercurio en plumas interescapulares de pollos de gaviota de Audouin de 5,08 mg/kg, lo que no parece diferenciarse demasiado de plumas primarias de adultos del Delta del Ebro analizadas en el presente estudio ($\text{Hg}_{\bar{x}\text{adultos}} = 4,96 \text{ mg/kg}$).

²³⁷Burger *et al.*, (2009) afirmaron que, en general, los niveles de contaminantes son mayores en adultos que en jóvenes, principalmente porque los adultos han podido adquirir y bioacumular contaminantes en su organismo durante más tiempo. Así lo han demostrado diferentes estudios para, entre otros, los metales mercurio (20 de 21 estudios), plomo (4 de 7) y cadmio (3 de 5) (²⁴³Burger, 1993). En la misma línea, estos autores también citan en su artículo de 2009 otros trabajos realizados principalmente con gaviotas y charranes que avalan dicha teoría (²⁴⁴Thompson *et al.*, 1993; ²⁴⁵Gochfeld *et al.*, 1996; ²⁴⁶Burger, 1996; ²⁴⁷Stewart *et al.*, 1997; ⁵⁶Burger and Gochfeld, 1997). En cuanto a los metales esenciales (Zn y Cu), por la capacidad del organismo de regularlos homeostáticamente, no se encontraron diferencias en las concentraciones en plumas entre adultos y juveniles de Anser común (*Anser anser*) y Chorlito gris (*Pluvialis squatarola*; ²⁴⁸Lucia *et al.*, 2010), o en las concentraciones de otros tejidos o la generación de metalotioneinas en Arao común (*Uria aalge*; Debacker *et al.* 2001).

En nuestro estudio, solamente los pollos de Torre Vieja presentaron mayor concentración de Zn y Hg que los adultos. En el resto de colonias, o no se han encontrado diferencias (caso de Isla Grosa) o estas diferencias señalan, en consonancia con los trabajos citados



anteriormente, mayores concentraciones en los adultos (como sucede en el Delta del Ebro para los metales Pb, Cu y Zn, sin haberse podido comparar el Hg).

Estas diferencias, entre adultos y pollos, parecen indicar una diferente exposición durante el periodo que abarca desde el nacimiento de los pollos (finales de mayo) a la muda otoñal de los adultos previa a la migración invernal (septiembre-octubre). Esto se puede explicar por varias razones:

1. Por una diferente composición de la dieta de pollos y adultos, habiéndose comprobado que los progenitores aportan a los pollos otras presas de pequeño tamaño, diferentes de las consumidas por ellos mismos, durante la crianza (presas terrestres, cangrejos de río, etc.) (¹⁵⁷Pedrocchi *et al.*, 2002).
2. Por una variación de la contaminación en los lugares de nidificación o muda entre el año en el que se realiza la muda de los adultos y el siguiente en el que realizan la puesta.
3. Porque, como han mencionado los autores anteriormente citados, los adultos tienen más tiempo para bioacumular metales en sus tejidos entre muda y muda.
4. O por una combinación de las tres anteriores.

Esta última opción es la única que permite comprender los casos en los que no se han encontrado diferencias significativas entre las concentraciones de pollos y adultos o incluso en aquellas en las que los pollos presentaban una mayor concentración de contaminantes en sus plumas que los adultos.

No obstante hay que tener en cuenta que en algunos casos en los que la contaminación por metales es elevada, se pueden detectar mayores concentraciones de los metales denominados oligoelementos (Zn y Cu), al utilizar estos las mismas rutas metabólicas que aquellos metales considerados contaminantes (⁷³Wenzel *et al.*, 1996; ²⁵Blanco *et al.*, 2003).

A la vista de estos resultados y dado que en todas las colonias se observan diferencias en al menos un metal entre pollos y adultos, a excepción de Isla Grosa, consideramos que nos arrojaría una información más real sobre la exposición a estos contaminantes metálicos comparar las distintas colonias según el grupo de edad al que pertenecen.

V.4.2.1 ESTUDIO DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN POLLOS, EN FUNCIÓN DE LA COLONIA.

A continuación se muestra en la siguiente tabla las concentraciones medias de metales en las plumas de los pollos en cada colonia.



Tabla V.29. Concentraciones de metales pesados en plumas de pollos de menos de 25 días de Gaviota de Audouin en las tres zonas estudiadas. Las concentraciones de los metales se expresan en (mg/kg) excepto para el cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$). Media \pm desviación estandar, mediana (mínimo-máximo). NA: no analizado.

Metales	ISLA GROSA			DELTA DEL EBRO			TORREVIEJA		
	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	3	5,19 \pm 4,30	6,66 (0,34-8,56)	12	8,77 \pm 5,98	9,46 (0,33-19,11)	10	5,60 \pm 11,63	1,96 (nd ₍₃₎ -38,134)
Pb*	3	0,94 \pm 0,33	0,97 (0,59-1,26)	12	0,28 \pm 0,23	0,17 (0,08-0,79)	10	0,61 \pm 0,52	0,43 (0,08-1,51)
Cu**	3	10,57 \pm 4,68	9,93 (6,23-15,54)	12	3,46 \pm 0,79	3,30 (2,53-5,01)	10	6,63 \pm 2,54	6,21 (3,40-11,28)
Zn *	3	127,56 \pm 42,40	110,92 (95,99-175,75)	12	33,46 \pm 12,98	29,60 (20,63-67,68)	10	47,45 \pm 21,91	48,49 (12,37-88,98)
Hg	3	5,51 \pm 0,61	5,51 (4,90-6,12)	0	NA	NA	61	8,21 \pm 7,65	5,82 (2,55-42,07)

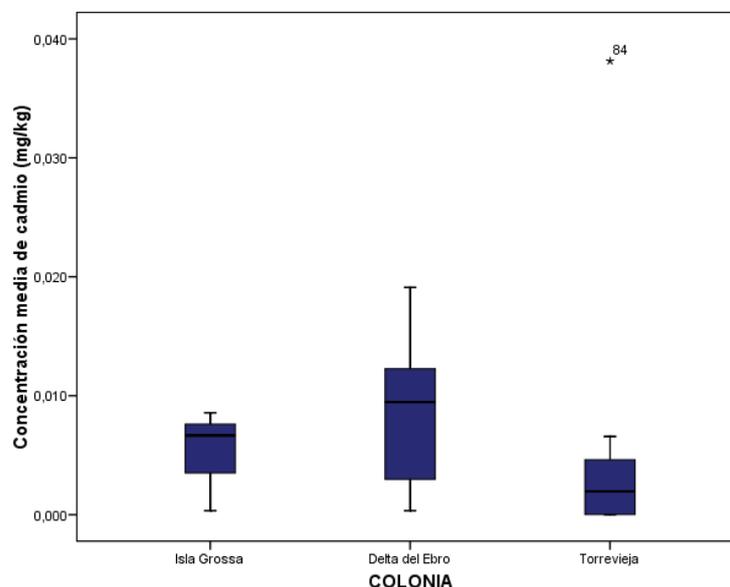
* Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$

** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,01$

➤ CADMIO EN PLUMAS DE POLLOS

No se observaron diferencias respecto a las concentraciones de cadmio en plumas entre las diferentes colonias.

Gráfico V.29. Concentración media de cadmio en plumas de pollos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



Las concentraciones de cadmio encontradas en plumas de pollos de nuestro estudio (0,005-0,009 mg/kg), fueron similares a las encontradas por ²⁸Rattner *et al.* (2008), en plumas de pollos de Águila pescadora (*Pandion aliaetus*), de Estados Unidos pero inferiores a las citadas por ²²⁴Lodenus y Solonen (2013), para la misma especie en Finlandia y Estados Unidos (0,11-0,26 mg/kg).



Ribeiro *et al.*, (2009) detectaron también mayores concentraciones de Cd que las de este estudio, en plumas de pollos de Alca común (*Alca torda*) en las costas de Portugal (Cd=0,036 mg/kg), otra especie piscívora. Igualmente, nuestras concentraciones fueron inferiores a las encontradas en plumas de Charrán común (*Sterna hirundo*) por ²³⁰Burger y Gochfeld (1993) (Cd=0,02-0,1 mg/kg) y en Charrán de Forster (*Sterna forsteri*) (Cd=0,11 mg/kg).

²⁴⁹Mendes *et al.* (2008) también encontraron niveles muy superiores en juveniles de Alcatraz atlántico (*Morus bassanus*) de las costas de Portugal (Cd= 0,122 mg/kg) afirmando este autor que estos niveles se encontraban alejados de los descritos como peligrosos para la especie.

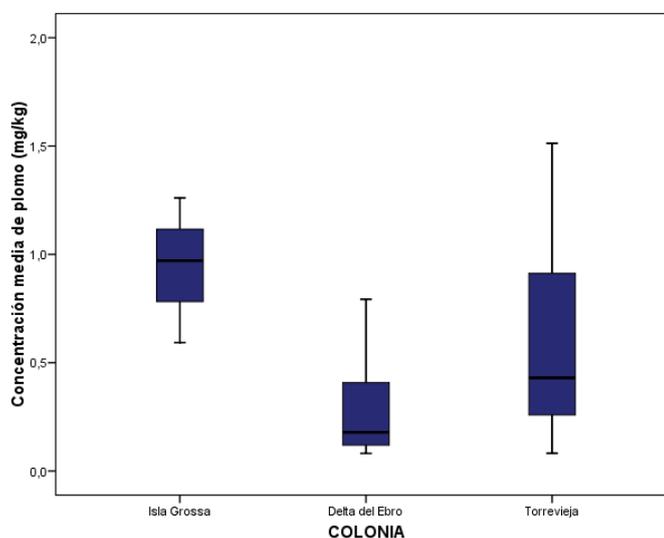
A la vista de estos datos no parece que los niveles de cadmio en pollos de Gaviota de Audouin de este estudio, puedan afectar a la supervivencia de los pollos.

Se ha descrito que aquellas aves marinas que se alimentan de cefalópodos (calamar y sepia) acumulan mayor cantidad de cadmio que los que se alimentan principalmente de peces (²⁵⁰Furness, 1996). Parece presumirse que este tipo de alimento no forma parte esencial de la dieta de los pollos de gaviota de Audouin a pesar de que en las colonias de cría de Isla Grossa y Torrevieja hemos observado presencia del esqueleto de sepíidos (hueso de sepia), aunque bien pueden formar parte de la dieta de los adultos y no de los pollos.

➤ PLOMO EN PLUMAS DE POLLOS

Únicamente existen diferencias significativas en la concentración de plomo entre los pollos de Isla Grossa y del Delta del Ebro ($Pb_{\bar{x}}=0,94$ vs $0,28$ mg/kg; $p=0,04$).

Gráfico V.30. Concentración media de plomo en plumas de pollos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).





Las concentraciones más altas de plomo para este grupo de edad se encontraron en las plumas de Isla Grosa, encontrando en Torrevieja concentraciones intermedias entre Isla Grosa y Delta del Ebro.

Los mayores niveles en Isla Grosa coinciden con el hallazgo en sangre (las concentraciones de este metal eran más altas que en Torrevieja), lo cual no hace sino avalar que en el área de influencia de Isla Grosa existe una fuente de contaminación por plomo que se va atenuando conforme nos dirigimos hacia el Norte.

Otra posibilidad es la composición de la dieta de los pollos de Isla Grosa. ²⁵¹Scheuhammer (1987), afirmó que una dieta pobre en calcio podía aumentar la afinidad por el plomo en las aves. De esta forma una alimentación más rica en insectos y sepídos de los pollos de Isla Grosa podría establecer también dichas diferencias. Además, ya en el capítulo 4 de esta memoria se comentaba la importancia de la contaminación ambiental de la zona circundante a Isla Grosa lo que favorecería una mayor absorción de este elemento y por tanto mayor riesgo para los pollos desde el punto de vista toxicológico.

Comparando con otros estudios, las concentraciones de este metal detectadas fueron superiores a las encontradas por ²⁸Rattner *et al.* (2008) en plumas de águila pescadora en las Bahías de Chesapeake y Delaware al este de los Estados Unidos e inferiores a las encontradas en juveniles de Alca común (1,29 mg/kg) por ²⁵²Ribeiro *et al.* (2009) y tres veces menos que las encontradas en juveniles de Alcatraz atlántico (3,28 mg/kg) por ²⁴⁹Mendes *et al.* (2008) en las costas de Portugal. Por otro lado las concentraciones encontradas en el presente estudio fueron similares a las encontradas por ³⁷García-Tarrasón *et al.* (2013) en pollos de la misma especie durante una investigación realizada en 2011 en el Delta del Ebro. Este autor aseguraba que existía una fuente de contaminación extraordinaria, como era el aeropuerto de Barcelona, que podía ser el origen de dicha contaminación. De hecho las concentraciones encontradas por nosotros en el Delta del Ebro en 2004 ($Pb_{\bar{x}}=0,28$ mg/kg) fueron iguales a las encontradas en la misma colonia por estos autores en 2011 ($Pb_{\bar{x}}=0,29$ mg/kg), por lo que suponemos que la contaminación por plomo en la zona ha permanecido constante a lo largo de estos años.

Estos niveles de contaminación “per se” no parecen suponer un problema para la supervivencia de los pollos de gaviota, al ser inferiores a los 4 mg/kg que se han relacionado con la aparición de problemas como el retraso en el reconocimiento parental y fraternal, problemas de locomoción, en la percepción de la profundidad de campo y del comportamiento alimenticio y disminución de la supervivencia de los pollos en gaviotas (²⁵³Burger y Gochfeld, 1995; ²³⁵Burger y Gochfeld, 2000).

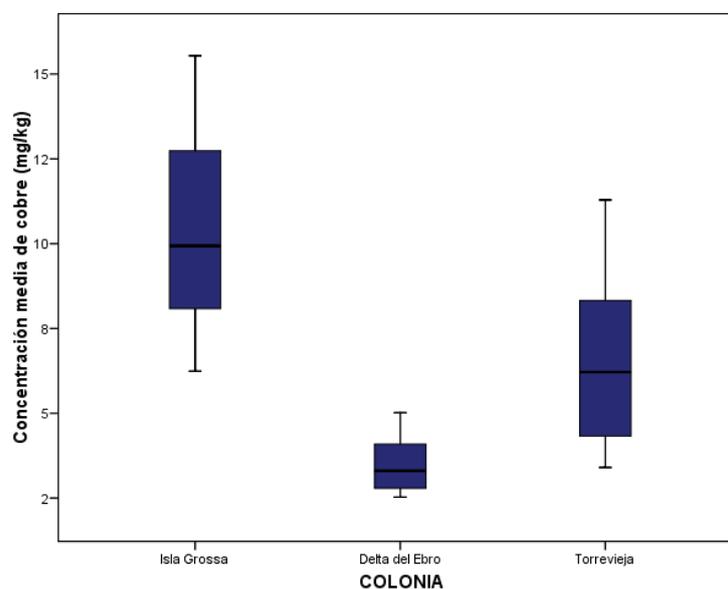


➤ COBRE EN PLUMAS DE POLLOS

También se hallaron diferencias significativas en las concentraciones de cobre en plumas entre los pollos de las colonias del Delta del Ebro y de Torrevieja ($Cu_{\bar{x}}=3,46$ vs $6,63$ mg/kg $p=0,008$). Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de Isla Grossa ($Cu_{\bar{x}}=10,57$ mg/kg) y el resto de colonias, la media de las concentraciones encontradas para este metal fue superior a las otras dos colonias. Este hecho también fue observado cuando se estudiaron las muestras de sangre de los pollos de Isla Grossa y Torrevieja (ver apartado V.2.2). En esa ocasión este hecho, en consonancia con lo expuesto por ⁶⁸Blanco *et al.* (2004) y ⁶⁹Debacker *et al.* (2001), se explicó como un peor estado nutricional de los pollos de Isla Grossa frente a los de Torrevieja ya que, como afirmaban estos autores, la concentración de Cu en los animales era inversamente proporcional a su estado nutricional.

No obstante el pequeño tamaño muestral de plumas de pollos de Isla Grossa no nos permite sacar conclusiones definitivas a este respecto.

Gráfico V.31. Concentración media de cobre en plumas de pollos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



Tanto ²⁵²Ribeiro *et al.* (2009) como ²⁴⁹Mendes *et al.* (2008) encontraron niveles ligeramente más altos en plumas de Alca común ($Cu=11,55$ mg/kg) y Alcatraces atlánticos ($Cu= 11,82$ mg/kg) en las costas de Portugal. Destacar que en estos dos casos se trataba de animales juveniles, no de pollos de 25 días como los del presente estudio, lo que puede haber marcado cierta diferencia, ya que además en ambos estudios los autores encontraron diferencias entre grupos de edad.

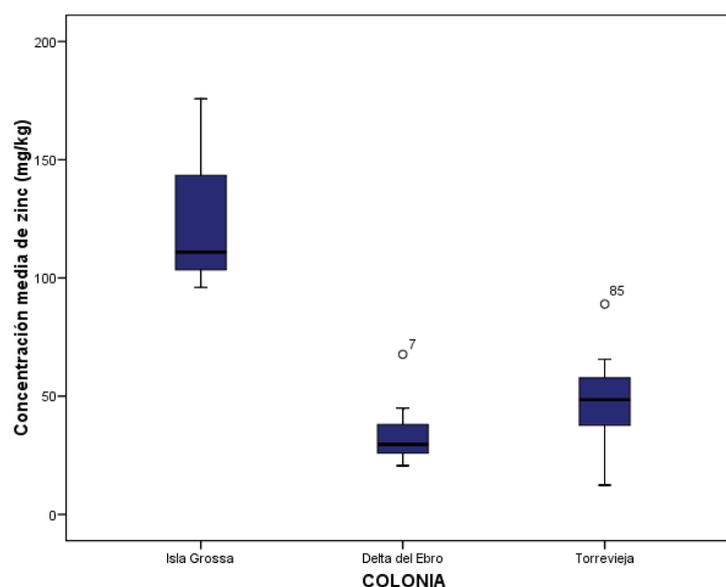


➤ ZINC EN PLUMAS DE POLLOS

Se encontraron niveles superiores en Torrevieja que en Delta del Ebro ($Zn_{\bar{x}}=47,45$ vs $33,46$ mg/kg; $p= 0,058$). En la colonia de Isla Grossa los niveles de Zn fueron significativamente superiores que en la del Delta del Ebro ($Zn_{\bar{x}}=127,56$ vs $33,46$ mg/kg; $p< 0,01$). A pesar de las elevadas concentraciones medias encontradas en Isla Grossa, posiblemente la gran diferencia entre el número de muestras obtenidas de las diferentes localidades impide el establecimiento de una diferencia estadísticamente significativa entre Isla Grossa y Torrevieja ($Zn_{\bar{x}}=47,45$ mg/kg), sin embargo, tanto la media como la mediana de los niveles de Zn en pollos de esta colonia fueron superiores.

A pesar de esto, hay que destacar que cuando estudiamos las concentraciones de este mismo metal en sangre, las concentraciones fueron significativamente más elevadas en Torrevieja que en Isla Grossa.

Gráfico V.32. Concentración media de zinc en plumas de pollos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



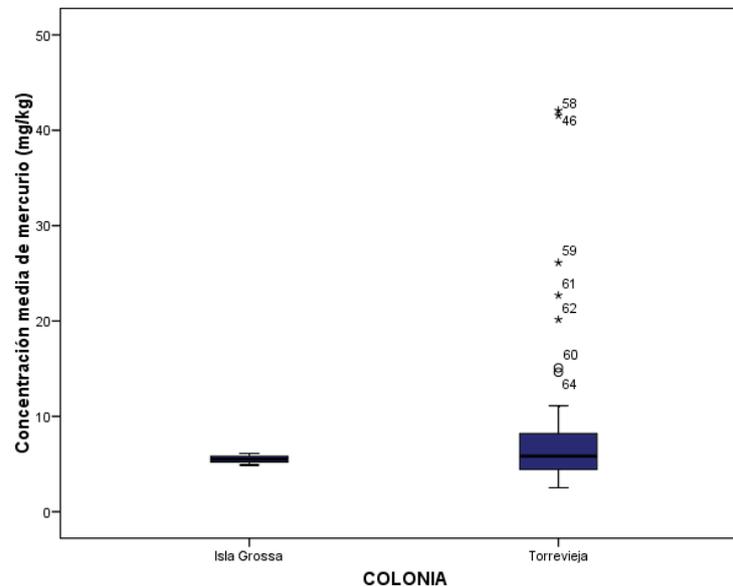
➤ MERCURIO EN PLUMAS DE POLLOS

Solo se pudo comparar las plumas de pollos de las colonias de Isla Grossa y Torrevieja, al carecer de muestras de plumas de pollos del Delta del Ebro para analizar dicho metal. Tras la realización del tratamiento de los datos no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de mercurio entre ambas localidades. Sin embargo, los niveles medios en los pollos de la colonia de Torrevieja ($Hg_{\bar{x}}= 8,21$ mg/kg) están dentro del rango encontrado por ²⁵⁴Doi *et al.* (1984) en plumas cobertoras de aves piscívoras capturadas durante 25 años, desde el famoso episodio de contaminación, en diferentes localidades cercanas a la Bahía de Minamata, en el mar de



Shiranui, un área presuntamente contaminada por Hg (7,9 mg/kg para el Cormorán de Temminck (*Phalacrocorax capillatus*), > 10 mg/kg para la Gaviota cana (*Larus canus*) o el Cormorán pelágico (*Phalacrocorax pelagicus*).

Gráfico V.33. Concentración media de mercurio en plumas de pollos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



²⁵⁵Goutner *et al.* (2000) analizando plumas de pollos de Gaviota de Audouin en Islas del Mediterráneo Oriental entre 1997 y 1998, encontraron concentraciones de hasta 2,02 mg/kg peso seco. Los niveles encontrados en dos localidades del Mediterráneo occidental (Delta del Llobregat y Delta del Ebro), en 2011 por ³⁷García-Tarrasón *et al.* (2013) fueron también inferiores a las de nuestro estudio (2,05 y 4,86 mg/kg respectivamente).

Por carecer de suficiente muestra no pudimos analizar este metal en las plumas de pollos del Delta del Ebro que fueron muestreadas en 2004. No obstante, ²⁴²Sanpera y colaboradores (2007), si lo hicieron para ese mismo año en dicha localidad, obteniendo concentraciones en plumas de pollos de 5,08 mg/kg. Si comparamos los datos obtenidos por ²⁴²Sanpera y colaboradores (2007), con la concentración media de las otras dos localidades de nuestro estudio (Isla Grossa y Torrevieja), tomadas en su conjunto ($Hg_{\text{pollos}} = 6,86$ mg/kg) podemos afirmar que las concentraciones son similares en todas las localidades.

El mar mediterráneo es considerado un mar altamente contaminado por mercurio. Diferentes actividades industriales y agrícolas vierten sus efluentes a los ríos y estos a su vez al mar contaminando su lecho. También la actividad minera puede contribuir a dicha contaminación. Los procesos de metilación del mercurio son especialmente importantes en la zona mesopelágica marina (entre los 100 y los 500 metros de profundidad).



Actividades pesqueras, como el arrastre, extraen del fondo de dicha zona peces con mayor concentración de mercurio que aquellos que viven en la columna de agua epipelágica. Esta actividad pesquera ha sido puesta de manifiesto como una de las actividades responsables de mayor contaminación de aves marinas en el Delta del Ebro (²⁵⁶Arcos *et al.*, 2002). ³⁷García-Tarrasón *et al.* (2013) asociaron la contaminación de las gaviotas del Delta del Ebro con una serie de vertidos realizados al río en el municipio de Flix. Ellos consideraron como tóxicos los niveles encontrados en los pollos de gaviota de Audouin de su estudio. Como ya se ha comentado en nuestro estudio, las Gaviotas de Audouin, tanto en Isla Grosa como en Torrevieja, se alimentan principalmente de especies epipelágicas, ya que parasitan principalmente las actividades de pesca de cerco haciéndolo de una manera casi testimonial sobre las artes de arrastre. Si consideramos que las especies mesopelágicas (capturadas en arrastre) contienen mayor concentración de mercurio que las epipelágicas (capturadas en el cerco), esto nos induciría a pensar que los fondos marinos de la zona principal de nuestro estudio (Isla Grosa y Torrevieja) se encuentran más contaminadas por este metal que los del Delta del Ebro.

La depleción de mercurio a través de las plumas es el mecanismo de detoxificación de mercurio más importante que poseen los pollos en desarrollo. Así lo comprobaron ²³⁶Fournier y colaboradores (2002) durante una exposición experimental con mercurio de pollos de Colimbo grande (*Gavia immer*). La, relativamente, rápida eliminación de una mayor proporción de MeHg a través de las plumas en desarrollo de los jóvenes pollos podría actuar en dichos pollos como tampón a los deletéreos efectos del MeHg a una edad en la que no existe una madurez fisiológica ni inmunológica (²⁵⁷Apanius, 1998). Esto haría que los pollos de gaviota de Audouin fueran especialmente resistentes a la acción de este contaminante.

En comparación con los resultados obtenidos en sangre, comprobamos que los metales muestran un comportamiento diferente: si bien no hemos encontrado diferencias para ninguno de los metales en plumas entre Torrevieja e Isla Grosa, si se encontraron diferencias en sangre respecto Pb y Cd (concentraciones mayores en Isla Grosa) y en Zn y Hg (concentraciones mayores en Torrevieja). La explicación de esta diferencia puede deberse a que para el análisis estadístico el tamaño muestral de pollos en Isla Grosa era muy bajo (n=3) o bien a que la pluma nos aporta una información con datos sujetos a una variabilidad menor por reflejar los niveles ambientales en un dilatado periodo de tiempo (mientras la pluma se encuentra en desarrollo), en comparación con la sangre, que refleja una exposición reciente o de movilización de los residuos acumulados en tejidos (¹⁰⁰Evers *et al.*, 2005).



V.4.2.2 ESTUDIO DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN ADULTOS, EN FUNCIÓN DE LA COLONIA.

A continuación se muestra en la siguiente tabla las concentraciones medias de metales en las plumas de los adultos en cada colonia.

Tabla V.30. Concentraciones de metales pesados en plumas de adultos de Gaviota de Audouin en las tres zonas estudiadas. Las concentraciones de los metales se expresan en (mg/kg) excepto para el Cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$). NA: no analizado por falta de muestra.

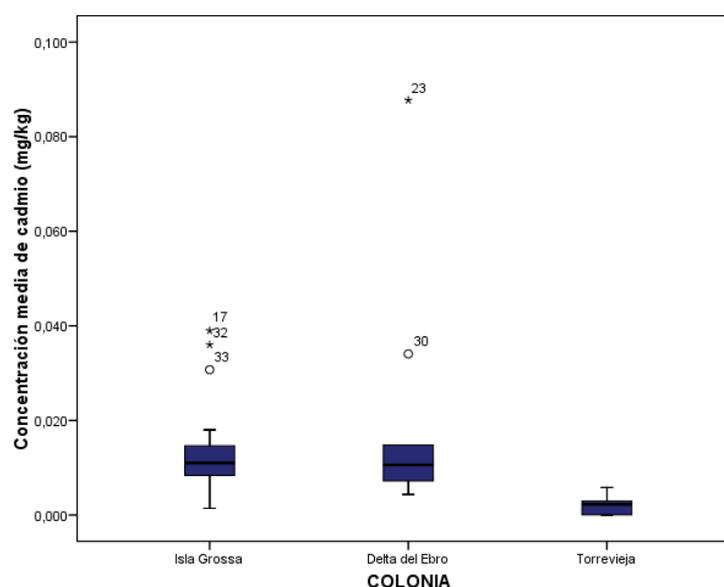
Metales	ISLA GROSA			DELTA DEL EBRO			TORREVIEJA		
	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	17	14,03 \pm 11,20	11 (1,43-38,98)	10	19,69 \pm 25,30	10,59 (4,35-87,72)	6	2,23 \pm 2,16	2,26 (nd ₍₄₎ -5,84)
Pb	18	0,80 \pm 0,55	0,76 (0,13-2,63)	10	0,58 \pm 0,18	0,58 (0,35-0,93)	6	1,05 \pm 1,06	0,62 (0,38-3,15)
Cu*	18	8,70 \pm 3,66	7,82 (0,59-18,02)	10	9,70 \pm 3,09	8,62 (5,81-15,88)	6	5,26 \pm 0,83	5,40 (3,90-6,16)
Zn*	18	82,19 \pm 53,23	64,72 (32,85-227,16)	10	56,40 \pm 11,50	54,45 (37,51-75,79)	6	23,02 \pm 16,65	21,83 (3,06-46,94)
Hg	3	5,51 \pm 0,61	5,51 (4,90-6,12)	9	4,96 \pm 3,46	2,75 (1,81-11,55)	6	4,19 \pm 1,72	3,95 (2,73-7,44)

* Se encontraron diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$

➤ CADMIO EN PLUMAS DE ADULTOS

Al igual que en el caso de las plumas de pollos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de Cd entre las diferentes colonias.

Gráfico V.34. Concentración media de Cadmio en plumas de adultos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).





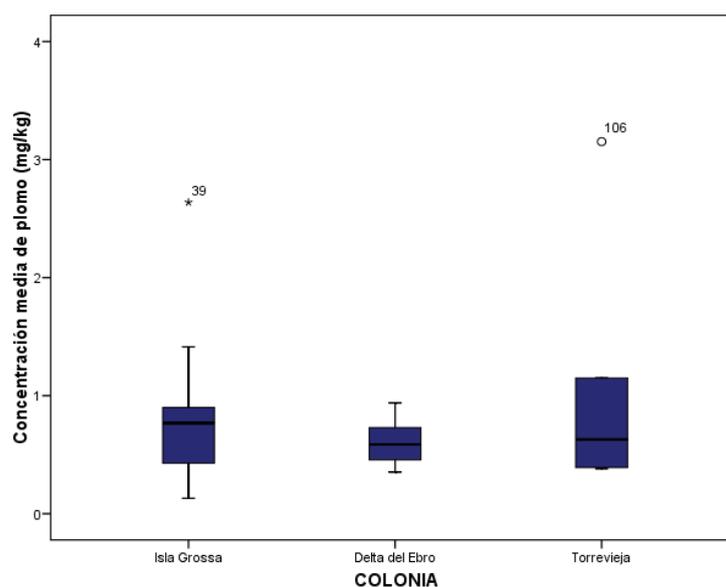
Además, los niveles de cadmio observados en estas plumas (0,002-0,019 mg/kg), fueron similares a los encontrados por otros autores, en las costas de la península Ibérica, en plumas de adultos de especies piscívoras como el Alca común (*Alca torda*; 0,002-0,036 mg/kg; ²⁵⁸Pérez *et al.*, 2005; ²⁵²Ribeiro, 2009), Arao común (*Uria aalge*; 0,001 mg/kg; ²⁵⁸Pérez *et al.*, 2005) o en el continente americano Charrán común (0,02-0,1 mg/kg; ^{259,230}Burger y Gochfeld, 1991; 1993). También son similares a los encontrados por ⁸⁶Martínez-López *et al.* (2005) en rapaces forestales como el Aguililla calzada (*Hieraaetus pennatus*) y el Azor (*Accipiter gentilis*) de la Región de Murcia (0,0018 mg/kg).

²⁴⁹Mendes *et al.* (2008), encontraron concentraciones superiores en Alcatraz atlántico (0,064 mg/kg), este hecho lo atribuye, como ya se ha comentado anteriormente, a que aves que se alimentan principalmente de calamar tienen mayor concentración de cadmio y aquellas que se alimentan principalmente de peces tendrán mayor concentración de mercurio (²⁶⁰Muirhead y Furness 1988; ²⁶¹Honda *et al.*, 1990).

➤ PLOMO EN PLUMAS DE ADULTOS

A diferencia de lo que sucedió con las plumas de los pollos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a las concentraciones de plomo en plumas de adultos entre las diferentes colonias, situándose la media de concentración para este metal entre los 0,58 mg/kg del Delta del Ebro y los 1,05 mg/kg de Torrevieja.

Gráfico V.35. Concentración media de plomo en plumas de adultos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



Estos niveles aunque son bastante superiores a los encontrados en plumas de ejemplares adultos de Alca común (0,006 mg/kg) y Arao común (0,006 mg/kg) en las costas de Galicia por ²⁵⁸Pérez *et al.* (2005) son ligeramente inferiores a los encontrados también para Alca



común por ²⁵²Ribeiro *et al.* (2009) en las costas de Portugal (1,88 mg/kg). ²⁴⁹Mendes *et al.* (2008), en las mismas costas, encontraron concentraciones de 1,11 mg/kg de plomo en plumas de Alcatraz atlántico, lo que se asemeja mucho a las del presente estudio. Este autor achacaba a una deposición atmosférica el origen de dicha contaminación ya que no se correspondían dichos niveles con niveles más bajos encontrados en otros tejidos de los mismos animales.

No obstante, los tratamientos de limpieza exterior a los que sometimos a las plumas de nuestro estudio, previo a su análisis, descartan dicha posibilidad, por lo que deducimos que existe una importante acumulación de dicho metal en las plumas de los adultos de gaviota, y por tanto, podemos deducir que nos encontramos ante moderados niveles de contaminación por plomo en las áreas estudiadas.

Concentraciones más elevadas (1,36-1,61 mg/kg) fueron encontradas por ²⁵⁹Burguer y Gochfeld (1991) en plumas de Charrán común, otra especie eminentemente piscívora, en la Bahía de Nueva York.

Por otro lado en plumas de rapaces eminentemente piscívoras como el Águila pescadora (*Pandion aliaetus*) de diferentes partes del mundo se encontraron concentraciones que rondaban los 0,8 mg/kg (²²⁴Lodenus y Solenen, 2013). ¹⁴Martínez-López *et al.* (2004) en plumas de rapaces de la Región de Murcia como el Aguililla calzada, Azor y Busardo ratonero de áreas alejadas de fuentes de contaminación, encontraron concentraciones medias similares a las del presente estudio (0,72, 0,98 y 1,01 mg/kg, respectivamente). No obstante, las diferencias en la dieta de estas especies y la de las gaviotas, hace difícil su interpretación.

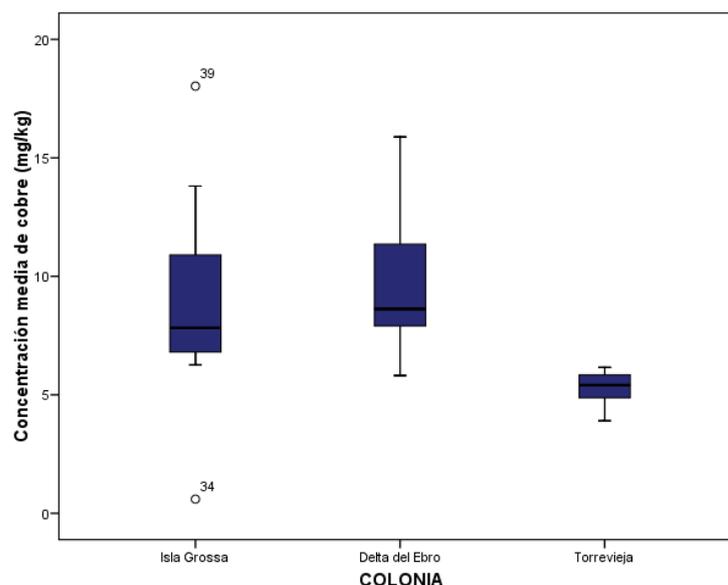
Por otro lado, ²²⁶Burger y Gochfeld (2000), consideraron que son necesarios al menos 4 veces las concentraciones medias más altas encontradas por nosotros en plumas de aves adultas (Pb=1,05 mg/kg) para que estas manifiesten efectos subletales y reproductivos.

➤ **COBRE EN PLUMAS DE ADULTOS**

Las concentraciones de cobre en plumas en los adultos del Delta del Ebro fueron significativamente superiores a las de Torrevieja ($Cu_{\bar{x}}=9,70$ vs $5,26$ mg/kg; $p= 0,03$), situándose Isla Grosa en valores intermedios entre ambos ($Cu_{\bar{x}}=8,70$ mg/kg).



Gráfico V.36. Concentración media de cobre en plumas de adultos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



No existen demasiados estudios en los que se analicen las concentraciones de cobre en plumas al tratarse de un oligoelemento.

²²⁴Lodenus y Solonen (2013), situaron los niveles de este metal esencial en plumas de ejemplares adultos de Águila pescadora entre 6-8,1 mg/kg. Sin embargo para las aves marinas de diferentes lugares costeros de la península ibérica, los datos son tan dispares como los obtenidos por ²⁵⁸Pérez *et al.* (2005) para Frailecillo (*Frailecillo arctica*), Arao común o Alca común (alrededor de 0,5 mg/kg) como los obtenidos por ²⁵²Ribeiro *et al.* (2009) para Alca común (7,17 mg/kg). ²⁴⁹Mendes *et al.* (2008) encontraron concentraciones de 17,51 mg/kg en plumas de ejemplares adultos de Alcatraz atlántico en las costas de Portugal. ²⁶²Malik y Zeb (2009) en un estudio realizado con plumas de Garcilla bueyera (*Bubulcus ibis*), una especie que suele alimentarse de peces, insectos, anfibios, etc., encontraron concentraciones de alrededor de 4 mg/kg de cobre en plumas.

Parece ser que los niveles de oligoelementos en plumas de aves adultas pueden variar tanto como en sangre, dependiendo de factores fisiológicos (estado nutricional, estado de desarrollo, estatus reproductivo, muda, etc.) así como al incremento de la producción de metalotioneinas (⁷⁹Stewart *et al.*, 1996).

➤ ZINC EN PLUMAS DE ADULTOS

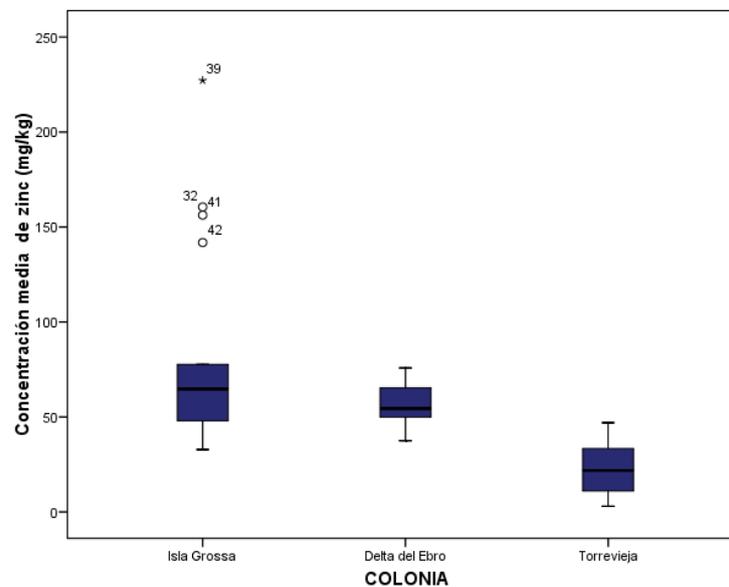
Tras comparar las tres colonias, se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de zinc en plumas entre los adultos de las colonias de Isla Grosa y Torrevieja ($Zn_{\bar{x}}=82,19$ vs $23,02$ mg/kg; $p=0,035$). La cercanía de ambas localidades hace presumir de una fuente de contaminación de zinc en los alrededores de Isla Grosa ya que,



como veíamos en los pollos, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, también los valores más altos para las concentraciones de este metal se encontraron en Isla Grosa.

La cercanía de la isla al canal que conecta la laguna del Mar Menor con el Mediterráneo (canal del Estacio) o la presencia de emisarios submarinos de aguas residuales en la zona podrían justificar dicha contaminación.

Gráfico V.37. Concentración media de zinc en plumas de adultos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



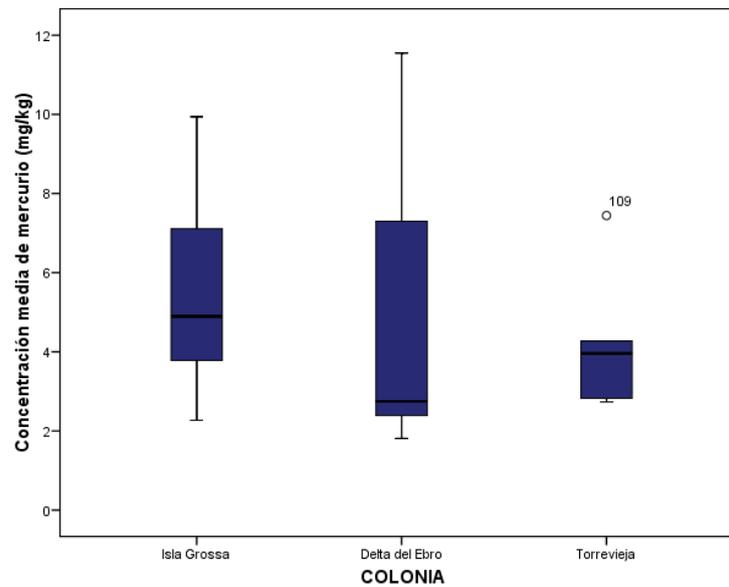
A pesar de las diferencias observadas que hace suponer una fuente de contaminación cercana a Isla Grosa, cabe decir que las concentraciones encontradas en plumas de adultos de esta especie no parecen ser demasiado preocupantes teniendo en cuenta que otros autores encontraron concentraciones mucho más altas de este metal en especies piscívoras de la península como el Alcatraz atlántico (*Morus basaanus*) (96,98 mg/kg) (²⁴⁹Mendes *et al.*, 2008) o el Alca común (130,2 mg/kg) (²⁵²Ribeiro *et al.*, 2009). ²²⁴Lodenus y Solonen (2013) reportaron en plumas en plumas de águila pescadora en Finlandia hasta 110 mg/kg sin mencionar problemas para la especie.

➤ MERCURIO EN PLUMAS DE ADULTOS

No se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a las concentraciones de mercurio en plumas de adultos entre las diferentes colonias.



Gráfico V.38. Concentración media de mercurio en plumas de adultos de las diferentes colonias estudiadas (mg/kg).



Las concentraciones encontradas por nosotros oscilaron entre 4,19-5,30 mg/kg ($Hg_{\bar{x}} = 5,0$ mg/kg). Estos niveles fueron muy inferiores a los encontrados por ²⁴²Sanpera *et al.* (2007), en plumas de la misma especie en el Delta del Ebro y Chafarinas en el año 2002 (16,20 y 19,62 mg/kg respectivamente)(*este autor refiere que son datos sin publicar*).

Destacar que, en nuestro estudio, realizado solo dos años después en la misma colonia (2004), las concentraciones de Hg en las plumas de los adultos habían descendido hasta 4,96 mg/kg. Esto junto a la inexistencia de diferencias significativas entre las colonias estudiadas entre 2002 y 2011, pone de manifiesto poca variabilidad en la exposición a Hg de los adultos independientemente del año y de la localización de la colonia. En cuanto a los elevados niveles encontrados por ²⁴²Sanpera *et al.* (2007), para el año 2002 podemos hipotetizar que se debieron a la disponibilidad de un recurso alimenticio altamente contaminado en dicha localización durante el periodo de muda de las gaviotas adultas. Al no tener datos sobre el éxito reproductivo, desconocemos si dicha exposición se produjo también durante el periodo reproductor de ese mismo año, así como de qué manera influyó en dicho evento. En el caso del estudio de ²⁵⁶Arcos *et al.* (2002), en plumas primarias recogidas de cadáveres de adultos de Gaviota de Audouin entre los años 1997 y 1999 en el Delta del Ebro, aunque las concentraciones fueron más elevadas que las del presente trabajo, se encuentran dentro de nuestro rango (8,10 mg/kg). Esto puede significar, o bien que la elevada variabilidad en la dieta de esta especie hace que no sigan un patrón de exposición más o menos constante o que, si obviamos los datos extremos encontrados por ²⁶³Sanpera y colaboradores en 2002, la contaminación por mercurio tiende a disminuir a lo largo del tiempo en esa zona de estudio. De hecho en febrero de



1991 entra en vigor en España la Orden sobre prohibición de la comercialización y utilización de ciertos productos fitosanitarios (²⁶⁴Orden de 1 de Febrero de 1991). Este hecho debe traducirse en la disminución de la contaminación por mercurio fruto de las actividades agrícolas, lo que en principio, en una zona eminentemente agrícola como el Delta del Ebro debería de tener una importante repercusión.

Se han asociado concentraciones por encima de 5 mg/kg de mercurio en plumas con efectos adversos sobre la reproducción como: disminución de la pollada y del tamaño del huevo, un menor éxito en los nacimientos, y una disminución de la supervivencia de los pollos (⁷⁵Eisler, 1987). ⁹⁹Jackson *et al.* (2011), observaron una disminución del 10% en el éxito reproductivo del Chochín de Carolina (*Thryothorus ludovicianus*), un ave paseriforme de América del norte y central, con concentraciones de mercurio en plumas entre 2,4 y 3 mg/kg. ²⁶⁵Bechard *et al.* (2009), afirmaron en un estudio realizado en Águila calva (*Haliaeetus leucocephalus*), que concentraciones en plumas de solo 7,5 mg/kg pueden asociarse a una reducida productividad e incluso la esterilidad aunque concentraciones encontradas por ellos de 18,74 mg/kg no afectaron al éxito reproductivo de las aves estudiadas. Nuestros datos arrojan valores similares o superiores, en algunos casos, a los encontrados por estos autores (8,21 mg/kg en el caso de los pollos de Torrevieja), por lo que, como se ha mencionado, se trataría de una zona contaminada por mercurio que podría influir sobre el éxito reproductivo de la especie. Sin embargo, es difícil de asegurar esto en aves coloniales ya que no se ha hecho un seguimiento del éxito reproductivo del animal muestreado del que, con posterioridad a su muerte, se toman las muestras de plumas. A pesar de que ²⁶⁶Lambertini (1982) no menciona problemas en las gaviotas de Audouin con concentraciones de 14,96 mg/kg, hemos de decir que en nuestros muestreos, tanto de Isla Grosa como de Torrevieja, la existencia de cadáveres de pollos de corta edad dispersos por la colonia de cría era una constante. También, ²⁵⁵Goutner *et al.*, (2000), sugieren que esta especie es muy resistente a la contaminación por mercurio al estar bien adaptada a la contaminación del Mediterráneo. Mientras en el Delta del Ebro diferentes autores y explican el origen de la contaminación por este metal debido a las prácticas agrícolas y a los vertidos realizados en el municipio de Flix por la industria del cloro “Ercros” que el río Ebro lleva hasta el mar (²⁵⁶Arcos *et al.*, 2002; ²⁴²Sanpera *et al.*, 2007; ³⁷García-Tarrasón *et al.*, 2013). Respecto a las colonias de Isla Grosa y Torrevieja, es la desembocadura del río Segura en Guardamar del Segura, a 16,5 km al norte de la colonia de Torrevieja, o la salida del Mar Menor al Mar Mediterráneo, a 2,7 km frente a Isla Grosa y a 26,5 km al sur de la colonia de Torrevieja, los posibles efluentes de dichos contaminantes que pueden afectar a ambas colonias. En este último caso, aunque los principales contaminantes metálicos (Fe, Zn y Pb) proceden de la Sierra Minera Cartagenera-La Unión, y son encauzados hacia esta laguna marina por diferentes



ramblas (⁵²García y Muñoz-Vera, 2015, imagen V.6), son esas mismas ramblas las que vierten también otros contaminantes metálicos procedentes de las explotaciones agrícolas y los suelos que rodean las laguna. Por otro lado, en el caso de la colonia de Torrevieja, tampoco podemos desdeñar la influencia que su ubicación, ejerce sobre la exposición a mercurio (¹⁰⁰Evers *et al.*, 2005). Como ya mencionamos en el apartado V.2.2, se ha observado una mayor exposición a mercurio de los animales que viven en lagunas salinas sometidas a explotación (⁶⁷Conover *et al.*, 2009; ⁶⁶Eagles-Smith y Ackerman, 2014). Los peces que viven en aguas con pH más bajo acumulan más MeHg que los que viven en aguas con valores circumneutrales (²⁶⁷Wiener *et al.*, 1990). Las aguas de las salinas, debido a su alta densidad, presenta menores valores de pH que las del mar que les rodea (Hernández-Ayón *et al.*, 2003). Esto, podría también explicar una mayor exposición a mercurio de las gaviotas que viven en las Salinas de Torrevieja.



Imagen V.6. Ramblas que vierten al Mar Menor desde la zona Minera y Agrícola (obtenido de ²⁶⁸Muñoz-Vera *et al.*, 2015).

V.4.3. MODELIZACIÓN DEL EFECTO GEOGRÁFICO Y DE LA EDAD SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE LOS DIFERENTES METALES EN PLUMAS.

A la vista de los resultados anteriores pudimos comprobar como Pb, Cu y Zn presentaban diferencias en cuanto a sus concentraciones en pollos de las diferentes colonias. Lo mismo sucedía con Cu y Zn en los adultos.

Nos resultaba interesante averiguar si dichas diferencias eran debidas a parámetros geográficos (localización de la colonia) o a la edad de los animales. Para ello, se realizó un estudio, mediante modelos lineales generalizados, en los que la localización geográfica o la edad actuaban solas o asociadas. Para ello aplicamos el enfoque metodológico de



información descrito por ¹⁰¹Burnham y Anderson (2002) para estudiar la variación de las concentraciones de los metales frente a los predictores geográficos o la edad. Las comparaciones de los modelos fueron basados en los criterios de información de Akaike (¹⁰¹Burnham y Anderson, 2002). Ordenamos los modelos basándonos en la diferencias de AIC (Δ_i) y el peso de Akaike (w_i). La tabla V. 31 muestra la clasificación de los modelos usados para explicar las variaciones en las concentraciones de los diferentes metales ante el efecto de la localidad o la edad de los animales. Los modelos se han construido hacia atrás, es decir introduciendo en el modelo todos los predictores y extrayéndolos uno a uno.

Los mejores modelos ($\Delta_i < 7$) incluyen diferentes combinaciones de los dos predictores considerados (colonia y edad). De esta forma pudimos comprobar que tanto para el Zn como para el Cu, es la interacción entre la “localidad” (colonia) y la “edad” la que mejor explica la exposición a estos metales, corroborando de esta manera como ambos metales se comportan de forma diferente en cada grupo de edad dependiendo de la localización de la colonia. Así, las concentraciones de Zn y Cu fueron más elevadas en los pollos de Torre Vieja y por el contrario, en los adultos, las de Zn fueron más elevadas Isla Grosa y las de Cu en Delta del Ebro.

Sin embargo, para el Pb se observa como el predictor “colonia y edad” es el que nos determina con mayor exactitud la exposición a este metal. Esto lo pudimos comprobar en el apartado anterior en el que solo para Delta del Ebro se producía una diferencia en la concentración en plumas entre pollos y adultos siendo significativamente superior en adultos.

*Tabla V.31. Hipotética combinación de modelos usados para examinar las variaciones en las concentraciones de metales en plumas según la localización de la colonia y la edad de los animales de los pollos de Gaviota de Audouin. El símbolo * implica interacción en los modelos (los modelos incluyen la interacción entre los dos factores).*

NOTACIÓN DEL MODELO	DESCRIPCIÓN DEL MODELO
Colonia	<i>Localización geográfica de la colonia</i>
Edad	<i>Edad de los sujetos (pollo o adulto).</i>
Colonia + Edad	<i>Efecto aditivo de ambos predictores.</i>
Colonia * Edad	<i>Interacción entre ambos predictores.</i>
Null	<i>Intersección.</i>



Tabla V.32. Clasificación de los modelos usados para explicar las concentraciones de metales, basados en los criterios de información de Akaike (AIC).

Metales	AIC	Δ_i	w_i	ER
Zn				
colonia*edad	2,03	0,00	0,998	1,0
colonia	15,17	13,14	0,001	712,3
colonia+edad	16,31	14,28	0,001	1262,1
Null	31,92	29,89	0,000	3094076,4
Pb				
colonia+edad	912,21	0,00	0,998	0,0
colonia	913,05	0,84	0,655	0,0
edad	914,05	1,84	0,397	0,0
colonia*edad	914,08	1,87	0,392	0,0
Null	916,20	3,99	0,136	0,0
Cu				
colonia*edad	1113,42	0,00	0,998	1,0
edad	1129,65	16,24	0,000	3356,0
colonia+edad	1130,06	16,64	0,000	4113,4
colonia	1132,68	19,26	0,000	15237,3
Null	1137,22	23,81	0,000	147783,0

V.4.4. ESTUDIO DE LA PLUMA COMO MATRIZ BIOINDICADORA DE EXPOSICIÓN A MERCURIO EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

Las plumas han sido utilizadas como un valioso tejido bioindicador de exposición a metales desde los años 60 (²⁴³Burger, 1993). Los niveles de metales en plumas reflejan los niveles de metales en sangre durante el corto periodo de crecimiento de la pluma, cuando la pluma está conectada con los vasos sanguíneos y los metales son incorporados en las estructuras de queratina de la misma (²²⁷Dauwe *et al.*, 2000).

Para estudiar la utilidad de la pluma para el estudio de la exposición a metales pesados durante el periodo de cría de una especie, como la Gaviota de Audouin, cuyos hábitos alimenticios son tan diversos, se seleccionaron 25 pollos de la colonia de Torrevieja (año 2011), en los que se había analizado tanto la sangre como sus plumas. La toma de muestras se realizó un día en el que la actividad pesquera era normal por lo que machos y hembras podían elegir sus zonas preferidas de alimentación sin problemas.

Se optó por elegir el metal mercurio para este análisis por diferentes razones: ser el metal pesado con una mayor afinidad por la pluma, ser el metal pesado más estudiado en este tipo de matriz, ser un contaminante metálico en el que se han estudiado los mecanismos



de absorción y toxicocinética en sangre en aves y por ser el metal que se analizó en un mayor número de pollos, concretamente 61 en 2011, año que fue elegido para el estudio.

Con este estudio pretendíamos investigar si existe alguna relación entre las concentraciones de mercurio en sangre y en plumas de Gaviota de Audouin en una colonia presuntamente contaminada por metales, y de esta manera averiguar que método, la extracción de sangre (invasivo) o la recolección de plumas (no invasivo), nos aportaba una información más fidedigna sobre la exposición a contaminantes metálicos en pollos de Gaviota de Audouin desde su nacimiento hasta el momento de abandonar la colonia.

Tras normalizar los datos obtenidos de concentraciones de mercurio tanto en plumas como en sangre, mediante la transformación logarítmica de los mismos, se optó por calcular el coeficiente de correlación lineal de Pearson, comprobando que no existía ninguna relación entre las concentraciones de mercurio en las plumas de los pollos y sus niveles en sangre ($P=0,108$; $p=0,615$), a diferencia de lo encontrado para la misma especie en otras colonias del mediterráneo occidental (Delta del Ebro) (²⁴² Sampera *et al.*, 2007).

Este hecho, entendemos, que puede ser debido, por un lado, a la gran variedad de presas que conforman la dieta de la gaviota de Audouin y por otro a que la pluma refleja el grado de exposición en el momento de su formación.

Se ha comprobado que, las Gaviotas de Audouin, son capaces de incluir en su dieta elementos tan dispares como el cangrejo rojo americano (*Procambarus clarkii*), insectos, aves, semillas, etc., si se encuentran accesibles en su área de campeo (¹⁵⁷ Pedrocchi *et al.*, 2002; ³⁹ Becares *et al.*, 2015). También, se ha comprobado que las hembras, tras la puesta, seleccionan preferentemente el hábitat marino para la búsqueda de presas por su necesidad de reponer su déficit de calcio, a diferencia de los machos, lo que puede motivar diferencias en los niveles sanguíneos de los pollos dependiendo de quien realizó la última ceba (²⁶⁹ García-Tarrasón, 2014; ³⁹ Becares *et al.*, 2015).

El metilmercurio se absorbe rápidamente vía digestiva tras su ingestión. ²³⁶ Fournier *et al.* (2002), comprobaron en pollos de colimbo grande (*Gavia immer*), a los que se les administró una dosis de MeHg vía oral, que se alcanzaba una biodisponibilidad del 83% en sangre de este metal en menos de 8 horas. Después, las concentraciones disminuían rápidamente, calculando el tiempo de semieliminación en 3 días, y quedando en niveles basales a las cuatro semanas. Esta caída rápida, se manifestaba principalmente en los pollos que tenían su plumaje en desarrollo y se mantenía más o menos constante en aquellos que ya lo habían desarrollado.



La concentración en sangre en un momento dado (C), depende, principalmente, de la cantidad ingerida y absorbida en un determinado momento (t), la concentración en sangre existente en ese momento de la ingestión (C_0) y su constante de eliminación (b) según la fórmula $C = C_0 \cdot e^{-bt}$, por lo cual, lo que se cuantifica finalmente en la sangre, es producto de un equilibrio dinámico entre la cantidad que ingresa y la que se elimina. Por otro lado la pluma en formación junto con las heces son los principales mecanismos de eliminación de mercurio en las aves (²³⁸Braune y Gaskin, 1887 ; ²³⁶Fournier *et al.*, 2002). Esto significa que la concentración de mercurio en sangre u otros tejidos internos, en un momento puntual, no tiene por qué relacionarse con las concentraciones medias de una pluma ya formada, ya que se trata de momentos de exposición diferentes en el tiempo (²⁷⁰Espín *et al.*, 2012). Dependerá, por tanto, del momento de la toma de muestras tras la última ingesta de alimento y la composición de la misma, así como del grado de desarrollo del plumaje.

²³³Furness *et al.*, (1986) observaron que las concentraciones de mercurio en diferentes plumas de una serie de aves marinas (*Catharacta skua hamiltoni*, *C. skua skua*, *Pterodroma incerta*, *P. mollis*, *P. brevirostris*, *Puffinus gravis*, *P. puffinus*, *Rissa tridáctila*, *Fulmarus glaciaris*), variaban en cada animal dependiendo del momento de la formación de cada tipo de pluma, produciéndose una mayor depleción de mercurio en aquellas que se formaban primero (primera primaria) respecto a las que se formaban más tarde (décima primaria). Esto se ha relacionado con la fisiología de la muda (muda secuencial; ²⁷¹Dauwe *et al.*, 2003) y el mercurio almacenado en el individuo en el momento de comenzar el proceso de la muda y no tanto con cambios a corto plazo del mercurio ingerido. También ²³³Furness *et al.*, (1986), comprobaron que las plumas primarias de un Págallo grande (*Catharacta skua h.*) contenían más del doble de mercurio (6,2 mg/kg) que las plumas interescapulares (2,6 mg/kg). Este hecho también ha sido comprobado en otras especies como el Azor o el Cárabo (*Strix aluco*) con el plomo (²⁷²Debén *et al.*, 2012). ²⁷³Solonen *et al.*, (1990), observaron, incluso, variaciones individuales entre polluelos hermanos que creen debidas a variaciones en la ingestión de mercurio durante el desarrollo de la pluma o a una mayor depleción hacia las primeras plumas así como sucede con los primeros huevos de la puesta. ²⁷⁴Braune y Gaskin (1987), estudiando la depleción de mercurio en una población de gaviota Bonaparte (*Chroicocephalus philadelphia*), observaron, durante la muda, que los insectos como los saltamontes presentaban mayores concentraciones de mercurio, en su forma orgánica, que los peces. Es, por tanto plausible que la sangre de un pollo de gaviota de Audouin, en un momento determinado, pueda mostrar un elevado grado de variabilidad (mayor o menor concentración), dependiendo de su concentración previa en sangre, la composición de la última ceiba, quien le proporciona esta (debido a la diferente selección de presas entre



machos y hembras durante la época de cría), el número de veces que defeca el pollo (ya que es otra vía de eliminación de mercurio en aves), y sobre todo el tiempo que ha pasado desde la última ceiba con un alimento contaminado con este metal.

Sin embargo, la concentración en plumas nos va a dar una idea de la concentración media durante el periodo de formación de esta (unas pocas semanas; ²³⁷Burger *et al.*, 2009). Por este motivo, una correlación entre las concentraciones de mercurio en sangre y en plumas, si la pluma seleccionada para el análisis ya ha completado su desarrollo y no recibe aporte sanguíneo alguno, es algo que no cabe esperarse en una especie con una enorme variabilidad de recursos tróficos como es la Gaviota de Audouin.

Es importante, por tanto, elegir adecuadamente la pluma a analizar conociendo el patrón de muda o incluso el grado de desarrollo de esta, según las especificaciones espaciotemporales de nuestro estudio. Así por ejemplo, las Gaviotas de Audouin adultas mudarán sus plumas de vuelo antes de iniciar la migración invernal, por lo que sus plumas nos darán información de la contaminación en las áreas de cría. Por otro lado, las Gaviotas de Audouin nacidas este año nacerán con plumón que luego será sustituido por plumas verdaderas. Posteriormente realizarán la primera muda en su primer invierno, momentos previos de su regreso a las colonias de cría. De esta forma su plumón nos dará información, principalmente, sobre la concentración de contaminantes en los tejidos de la madre en el momento de la puesta, sus primeras plumas en nido nos informarán de la exposición, principalmente a través de la dieta, en el área de nidificación y las plumas mudadas el primer invierno nos informarán sobre la contaminación en los cuarteles de invierno.

V.4.5. ESTUDIO DE LAS DIFERENCIAS ENTRE CONCENTRACIONES DE CONTAMINANTES METÁLICOS (Cd, Pb, Cu y Zn) ENCONTRADOS EN CÁSCARA DE HUEVO Y PLUMAS DE ADULTOS.

Los contaminantes metálicos presentes en los huevos provienen principalmente de la comida ingerida por la madre durante el periodo de puesta así como de la movilización de contaminantes presentes en sus tejidos (²³⁷Burger *et al.*, 2009). Por otro lado, los metales presentes en las plumas de los adultos, como ya hemos mencionado con anterioridad, provienen del alimento ingerido durante la fase de muda y de los contaminantes almacenados en su organismo. La Gaviota de Audouin realiza la muda justo después del periodo reproductivo. Consideramos interesante investigar cuan de importante es el periodo de cría o la muda para la excreción de contaminantes en las hembras reproductoras de esta especie.



Diferencias en las concentraciones de los contaminantes metálicos en muestras de aves reproductoras han sido descritas por diferentes autores. Así, ²⁷⁵Burger (2008) encontró diferencias entre las concentraciones de metales entre muestras de huevos y plumas de los parentales en Eiders (*Somateria mollissima*) en Alaska. Así, comprobó que las concentraciones de cadmio, plomo, manganeso, cromo y mercurio eran mayores en plumas que en huevos. ²⁵⁹Burger y Gochfeld (1991), encontraron diferencias entre las concentraciones de cadmio y plomo de plumas de los parentales y sus huevos en Charrán común siendo mayores las concentraciones en las primeras. Del mismo modo, ^{243,246}Burger (1993; 1996), describe como la diferencia entre plumas de adultos y de pollos puede deberse a que los padres llevan más tiempo acumulando contaminantes en los tejidos de los que se desprenden con cada muda y por consumir diferentes presas pollos y adultos durante la temporada de cría. ²⁴⁶Burger (1996), estudiando niveles de metales en plumas y huevos de gaviotas de Franklin (*Leucophaeus pipixcan*) comprobó que las concentraciones de cadmio, plomo, mercurio y manganeso eran mayores en plumas de los padres que en los huevos, mientras selenio y cromo se comportaron a la inversa. Esto define un diferente tropismo por los metales dependiendo de cada tejido, como ya hemos comprobado en este trabajo con anterioridad. No obstante, estos trabajos utilizan el contenido del huevo como matriz para el análisis de metales.

En este estudio hemos querido comprobar cómo se comportaron las plumas de adultos y las cáscaras de huevo para los contaminantes metálicos Cd, Pb, Cu y Zn. Para ello, seleccionamos muestras procedentes de Isla Grosa entre los años 2000 a 2004 de plumas de adultos y cáscaras de huevo.

Comprobamos que las concentraciones medias de Cd, Pb, Cu y Zn, fueron siempre significativamente mayores ($p < 0,001$), en plumas de los adultos que en cáscaras de huevo, como se observa en la tabla V.33.

Tabla V.33. Concentraciones de metales pesados en cáscara de huevos y en plumas de adultos de Gaviota de Audouin de Isla Grosa 2000-2004. Las concentraciones de los metales se expresan en (mg/kg) excepto para el Cadmio ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Metales	CÁSCARA HUEVO			PLUMAS ADULTOS		
	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)	n	$\bar{X} \pm \text{sd}$	Mediana (mín-máx)
Cd	15	2,56 \pm 2,19	2,47(0,05-6,95)	17	14,03 \pm 11,20	11 (1,43-38,99)
Pb	15	0,16 \pm 0,06	0,16 (0,07-0,27)	18	0,80 \pm 0,55	0,76 (0,13-2,63)
Cu	15	1,16 \pm 0,55	0,91 (0,48-2,11)	18	8,70 \pm 3,66	7,82 (0,59-18,02)
Zn	15	6,19 \pm 4,05	4,62 (2,86-16,08)	18	82,19 \pm 53,23	64,72 (32,85-227,16)



A la vista de los datos podemos inferir que las plumas son utilizadas como un medio más eficiente para eliminar contaminantes metálicos, que las cáscaras de los huevos.

Aunque esta especie pone de media tres huevos (²⁷⁶Pedrocchi, 1998), teniendo en cuenta que el primer huevo recibe la mayor carga contaminante (¹⁴²Morera *et al.*, 1997; ²⁷⁷Sanpera *et al.*, 1997; ²⁷⁸Sanpera *et al.*, 2000), no parece que en la puesta se elimine mayor carga contaminante que en la muda.

Excepto para el metal plomo, el cual muestra una relación 1:4 (cáscara : pluma), cadmio y cobre mostraron una relación aproximada de 1:7 entre ambos tejidos. El zinc fue el que más alejado se mostró en las concentraciones entre ambos tipos de muestras (1:13), posiblemente porque, como ya se comentó en el capítulo en el que se habló de la contaminación metálica en huevos, el zinc es el contaminante que, a diferencia de lo que ocurre en cadmio y plomo, se acumula más en el contenido del huevo que en la cáscara. El comportamiento del plomo se debe presumiblemente a la afinidad del Pb por los sitios de acción molecular del calcio, lo que lleva a un mayor almacenamiento en estos lugares (¹³⁶Scheuhammer, 1987). Esto hace que al igual que sucede con la matriz ósea, tenga tropismo por la cáscara del huevo. De ahí la mayor concentración de este metal en la cáscara frente al resto. Por otro lado, ¹³⁸Mora (2003), observó en paseriformes que las concentraciones de metales eran superiores en la cáscara que en el contenido del huevo (de 2 a 35 veces superiores), a excepción del zinc que se encontraba del orden de seis veces más concentrado en el contenido que en la cáscara.

Gráfico V.39. Concentraciones medias de Cd en cáscara de huevo y plumas de adulto de Isla Grosa ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

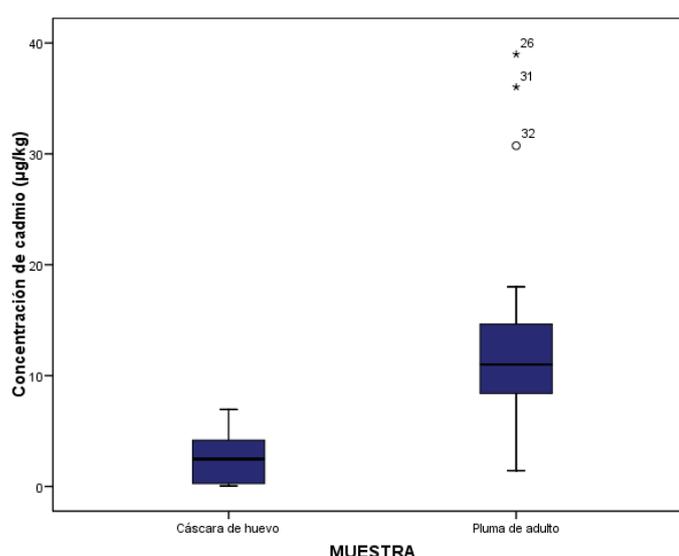




Gráfico V.40. Concentraciones medias de Pb en cáscara de huevo y plumas de adulto de Isla Grosa (mg/kg).

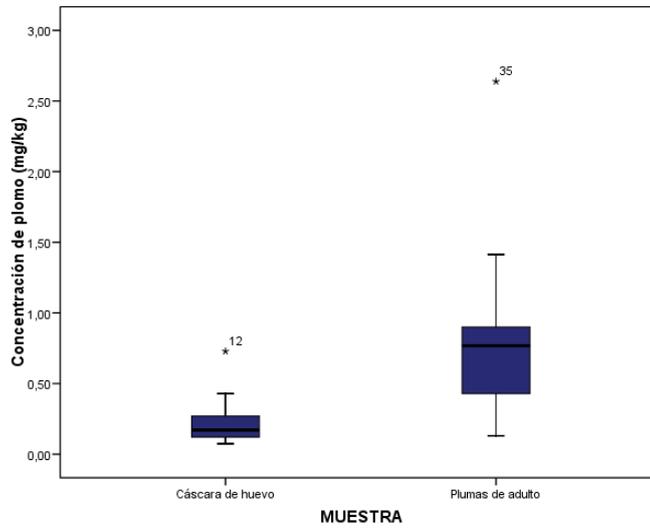


Gráfico V.41. Concentraciones medias de Cu en cáscara de huevo y plumas de adulto de Isla Grosa (mg/kg).

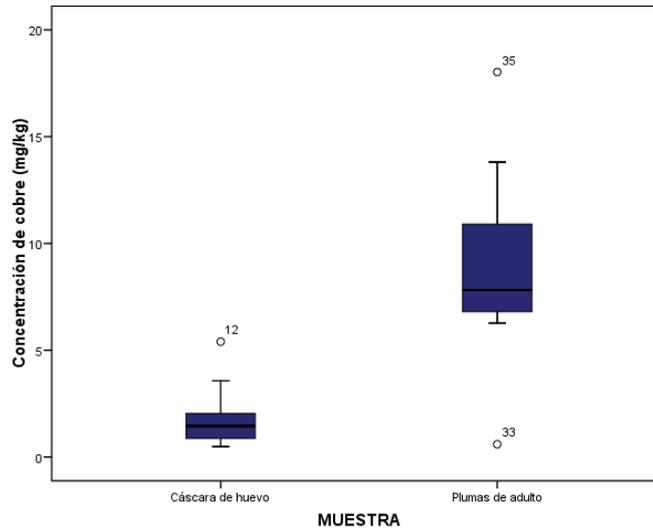
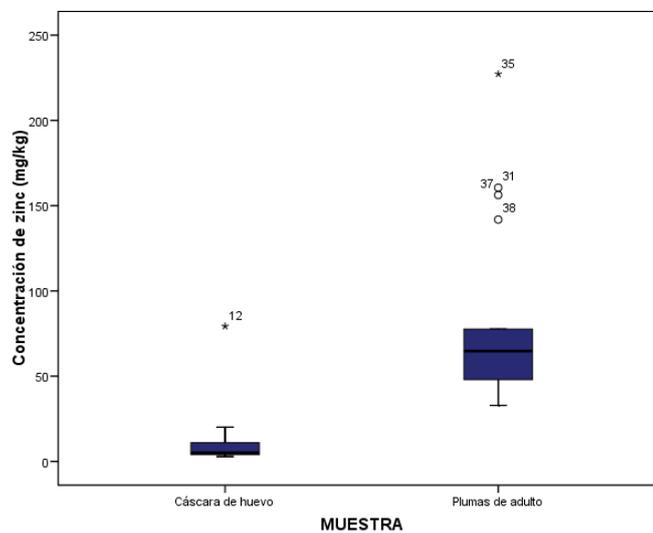


Gráfico V.42. Concentraciones medias de Zn en cáscara de huevo y plumas de adulto de Isla Grosa (mg/kg).





Teniendo en cuenta que las gaviotas adultas realizan una muda postnupcial de sus plumas primarias es decir después de la puesta y la crianza de los pollitos y previo a su viaje a los lugares de invernada, parece ser que esta supone una mayor depleción de contaminantes en las aves, más incluso que la puesta de huevos.

²³⁷Burger *et al.* (2009), observaron en la Gaviota de Bering (*Larus glaucescens*) que los huevos presentaban menor concentración de cadmio, plomo y mercurio que las plumas de los adultos; y estos, a su vez, presentaban más altas concentraciones de cadmio, plomo, cromo y mercurio que las plumas de los pollos.





BIBLIOGRAFÍA





1. De Basilio V, Cori M. Efectos del estrés térmico sobre la calidad de la carne en los pollos de engorde. *Rev Albeitar Portal Vet.* 2016. <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/14839/articulos-aves/efectos-del-estres-termico-sobre-la-calidad-de-la-carne-en-los-pollos-de-engorde.html>.
2. Lara L, Rostagno M. Impact of Heat Stress on Poultry Production. *Animals.* 2013;3(2):356-369. doi:10.3390/ani3020356.
3. Oro D, Jover L, Ruiz X. Influence of trawling activity on the breeding ecology of a threatened seabird, Audouin's gull *Larus audouinii*. *Mar Ecol Prog Ser.* 1996;139:19-29. doi:10.3354/meps139019.
4. Sarzo B, Torres C, Ferrández M, Jiménez J, Cubells F. Evolución de la población de Gaviota de Audouin (*Larus audouinii*) en la Comunidad Valenciana: el Plan de Acción. In: *13th MEDMARAVIS Pan-Mediterranean Symposium.* Vol ; 2011. <http://www.agroambient.gva.es/documents/91061501/109950963/Evolución+de+la+población+de+la+gaviota+de+Audouin+Larus+audouinii+en+la+Comunidad+Valenciana/237738c4-d6c6-4271-a318-16dfff131c68>.
5. Genovart M, Oro D, Ruiz X, Griffiths R, Monaghan P, Nager R. Seasonal changes in brood sex composition in Audouin's Gulls. *The Condor.* 2003;105:783-790. doi:10.1650/7265.
6. Genovart M, Jover L, Ruiz X, Oro D. Offspring sex ratios in subcolonies of Audouin's gull, *Larus audouinii*, with differential breeding performance. *Can J Zool.* 2003;81(5):905-910. doi:10.1139/z03-069.
7. Garcia-Fernandez A, Sanchez-Garcia JA, Jimenez-Montalban P, Luna A. Lead and cadmium in wild birds in southeastern Spain. *Environ Toxicol Chem.* 1995;14(12):2049-2058. doi:10.1002/etc.5620141207.
8. Baos R, Jovani R, Forero MG, et al. Relationships between T-cell-mediated immune response and Pb, Zn, Cu, Cd, and As concentrations in blood of nestling white storks (*Ciconia ciconia*) and black kites (*Milvus migrans*) from Doñana (southwestern Spain) after the Aznalcóllar toxic spill. *Environ Toxicol Chem.* 2006;25(4):1153-1159. doi:10.1897/05-395r.1.
9. Hoffman DJ, Pattee OH, Wiemeyer SN, Mulhern B. Effects of lead shot ingestion on delta-aminolevulinic acid dehydratase activity, hemoglobin concentration, and serum chemistry in bald eagles. *J Wildl Dis.* 1981;17(3):423-431. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7310952>. Accessed July 11, 2017.
10. Franson JC, Sileo L, Pattee OH, Moore JF. Effects of chronic dietary lead in American kestrels (*Falco sparverius*). *J Wildl Dis.* 1983;19(2):110-113.
11. Scheuhammer M. Monitoring wild bird populations for lead exposure. *J Name J Wildl Manag (USA); J Vol 533.* 1989;53(3):Medium: X; Size: Pages: 759-765.
12. Henny CJ, Blus LJ, Hoffman DJ, Grove RA, Hatfield JS. Lead accumulation and osprey production near a mining site on the Coeur d'Alene River, Idaho. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1991;21(3):415-424. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5222583>. Accessed July 11, 2017.
13. García-Fernández AJ, Motas-Guzmán M, Navas I, María-Mojica P, Luna A, Sánchez-García JA. Environmental exposure and distribution of lead in four species of raptors in southeastern Spain. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1997;33(1):76-82. doi:10.1007/s002449900226.
14. Martínez-López E, Martínez JE, María-Mojica P, et al. Lead in feathers and delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in three raptor species from an unpolluted Mediterranean forest (Southeastern Spain). *Arch Environ Contam Toxicol.* 2004;47(2):270-275. doi:10.1007/s00244-004-3027-z.



15. Burger *, †, M. Gochfeld J, Gochfeld M. Age Differences in Metals in the Blood of Herring (*Larus argentatus*) and Franklin's (*Larus pipixcan*) Gulls. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1997;33(4):436-440. doi:10.1007/s002449900274.
16. Gómez-Ramírez P, Martínez-López E, María-Mojica P, León-Ortega M, García-Fernández a. J. Blood lead levels and δ -ALAD inhibition in nestlings of Eurasian Eagle Owl (*Bubo bubo*) to assess lead exposure associated to an abandoned mining area. *Ecotoxicology*. 2011;20(1):131-138. doi:10.1007/s10646-010-0563-3.
17. Espín S, Martínez-López E, Jiménez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Delta-aminolevulinic acid dehydratase (δ ALAD) activity in four free-living bird species exposed to different levels of lead under natural conditions. *Environ Res*. 2015;137:185-198. doi:10.1016/j.envres.2014.12.017.
18. Evers D, Lane O, Savoy L, Goodale W. Assessing the impacts of methylmercury on piscivorous wildlife using a wildlife criterion value based on the Common Loon, 1998-2003. (*Report BRI2004-05*). 2004. file:///C:/Users/PEDRO/Downloads/2004-05_Eversetal.pdf.
19. Evers DC, Reaman P. A comparison of mercury exposure and risk between artificial impoundments and natural lakes measured in Common Loons and their prey, 1996-97. *Fish Wildl Serv*. 1998:47. <https://catalog.data.gov/dataset/a-comparison-of-mercury-exposure-and-risk-between-artificial-impoundments-and-natural-l-19>.
20. Zdziarski JM, Mattix M, Bush RM, Montali RJ. Zinc Toxicosis in Diving Ducks. *J Zoo Wildl Med*. 1994;25(3):438-445. <http://www.jstor.org/stable/20095396>.
21. Carpenter JW, Andrews G a, Beyer WN. Zinc toxicosis in a free-flying trumpeter swan (*Cygnus buccinator*). *J Wildl Dis*. 2004;40(4):769-774. doi:10.7589/0090-3558-40.4.769.
22. Sileo L, Nelson Beyer W, Mateo R. Pancreatitis in wild zinc-poisoned waterfowl. *Avian Pathol*. 2003;32(6):655-660. doi:10.1080/03079450310001636246.
23. Osofsky A, Jowett PLH, Hosgood G, Tully TN. Determination of Normal Blood Concentrations of Lead, Zinc, Copper, and Iron in Hispaniolan Amazon Parrots (*Amazona ventralis*). *J Avian Med Surg*. 2001;15(1):31-36. doi:10.1647/1082-6742(2001)015[0031:donbco]2.0.co;2.
24. Garcia-Fernandez a. J, Martinez-Lopez E, Romero D, Maria-Mojica P, Godino a., Jimenez P. High levels of blood lead in griffon vultures (*Gyps fulvus*) from Cazorla Natural Park (southern Spain). *Environ Toxicol*. 2005;20(4):459-463. doi:10.1002/tox.20132.
25. Blanco G, Frías O, Jiménez B, Gómez G. Factors influencing variability and potential uptake routes of heavy metals in black kites exposed to emissions from a solid-waste incinerator. *Environ Toxicol Chem*. 2003;22(11):2711-2718. doi:10.1897/02-519.
26. Ewan R. Toxicology and adverse effects of mineral imbalance with emphasis on selenium and other minerals. In: Oehme FW, ed. *Toxicity of Heavy Metals in the Environment Part 1*. Vol New York: M. Dekker; 1978:445-489. https://books.google.es/books/about/Toxicity_of_heavy_metals_in_the_environm.html?id=HFhRAAAAMAAJ&redir_esc=y.
27. Goede a. a. Mercury, selenium, arsenic and zinc in waders from the Dutch Wadden Sea. *Environ Pollut Ser A Ecol Biol*. 1985;37(4):287-309. doi:10.1016/0143-1471(85)90119-9.
28. Rattner B a., Golden NH, Toschik PC, McGowan PC, Custer TW. Concentrations of metals in blood and feathers of nestling ospreys (*Pandion haliaetus*) in Chesapeake and Delaware Bays. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2008;54(1):114-122. doi:10.1007/s00244-007-9004-6.
29. Gómez-Ramírez P. El Búho real (*Bubo bubo*) como especie biomonitora de contaminantes ambientales persistentes en el sureste de España. *Tesis Dr Eur Univ Murcia*. 2011:313.
30. Langner HW, Greene E, Domenech R, Staats MF. Mercury and Other Mining-Related



- Contaminants in Ospreys Along the Upper Clark Fork River, Montana, USA. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2012;62(4):681-695. doi:10.1007/s00244-011-9732-5.
31. García-Fernández AJ, Navas I, Martínez-López E, et al. Niveles de zinc y cobre en aves silvestres procedentes de centros de recuperación ¿sirven para monitorizar contaminación ambiental? *Rev Toxicol*. 2005;22:115.
 32. Pérez-López M, Hermoso de Mendoza M, López Beceiro A, Soler Rodríguez F. Heavy metal (Cd, Pb, Zn) and metalloid (As) content in raptor species from Galicia (NW Spain). *Ecotoxicol Environ Saf*. 2008;70(1):154-162. doi:10.1016/j.ecoenv.2007.04.016.
 33. Baos R, Jovani R, Pastor N, et al. Evaluation of genotoxic effects of heavy metals and arsenic in wild nestling white storks (*Ciconia ciconia*) and black kites (*Milvus migrans*) from southwestern Spain after a mining accident. *Environ Toxicol Chem*. 2006;25(10):2794-2803. doi:10.1897/05-570r.1.
 34. Bernal, M P; Clemente, R; Vazquez, S; Walker DJ. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Ecosistemas*. 2007;16(2):67-76.
 35. Benito V, Devesa V, Muñoz O, et al. Trace elements in blood collected from birds feeding in the area around Donana National Park affected by the toxic spill from the Aznalcollar mine. *Sci Total Environ*. 1999;242(1-3):309-323. doi:10.1016/S0048-9697(99)00398-8.
 36. Oro D, Cam E, Pradel R, Martínez-Abraín A. Influence of food availability on demography and local population dynamics in a long-lived seabird. *Proc Biol Sci*. 2004;271(1537):387-396. doi:10.1098/rspb.2003.2609.
 37. García-Tarrasón M, Pacho S, Jover L, Sanpera C. Anthropogenic input of heavy metals in two Audouin's gull breeding colonies. *Mar Pollut Bull*. 2013;74(1):285-290. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.06.043.
 38. Witt H. Zur Biologie der Korallenmöwe *Larus audouinii* — Brut und Ernährung. *J Ornithol*. 1977;118(2):134-155. doi:10.1007/BF01648315.
 39. Bécares J, García-Tarrasón M, Villero D, et al. Modelling Terrestrial and Marine Foraging Habitats in Breeding Audouin's Gulls *Larus audouinii*: Timing Matters. *PLoS One*. 2015;10(4):e0120799. doi:10.1371/journal.pone.0120799.
 40. Ruiz X, Oro D, Martínez-Vilalta a, Jover L. Feeding ecology of Audouin's Gulls (*Larus audouinii*) in the Ebro Delta. *Colon Waterbirds*. 1996;19(1996):68-74.
 41. Witt HH, Crespo J, Juana E, Varela J. Comparative feeding ecology of Audouin's gull (*Larus audouinii*) and the Herring gull (*L. argentatus*) in the Mediterranean. *Ibis (Lond 1859)*. 1981;123(4):519-526. doi:10.1111/j.1474-919X.1981.tb04058.x.
 42. Wallace DIM. Observations on Audouin's Gulls in Majorca. *Br Birds*. 1969;62(223-229). https://britishbirds.co.uk/wp-content/uploads/article_files/V62/V62_N06/V62_N06_P223_229_A048.pdf.
 43. Arcos Pros JM. Foraging ecology of seabirds at sea: significance of commercial fisheries in the NW Mediterranean. *Tesis Dr Univ Barcelona*. 2001. <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/775/TOL38.pdf?sequence=1>. Accessed July 14, 2017.
 44. Oro D, Genovart M, Tavecchia G, Fowler MS, Martínez-Abraín A. Ecological and evolutionary implications of food subsidies from humans. *Ecol Lett*. 2013;16(12):1501-1514. doi:10.1111/ele.12187.
 45. Enclave-Ambiental. Farallón e Isla Grosa - Región de Murcia Digital. 2017. http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,365,m,2705&r=ReP-22009-DETALLE_REPORTAJESPADRE. Accessed September 8, 2017.
 46. Arroyo Morcillo S, Ramos Sánchez AJa. Seguimiento de la gaviota de audouin (*Larus*



- audouinii) en el sur de Alicante 2001-2003. 2003. <http://ahsa.org.es/wp/wp-content/uploads/2010/12/La Gaviota de Audouin en el sur de Alicante 2001-2003.pdf>.
47. Mederos Martín, A. y Ruiz Cabrero L a. "El pecio fenicio del Bajo de la Campana (Murcia, España) y el comercio del marfil norteafricano". *Zephyrus*. 2004;57:Universidad de Salamanca: 263-281.
 48. Lledó C. Contaminación de las aguas subterráneas: tipo doméstico e industrial. In: IGME, ed. *Presente Y Futuro de Las Aguas Subterráneas En La Provincia de Jaén*. Vol Madrid; 2002:149-156. http://aguas.igme.es/igme/publica/lib108/pdf/lib108/in_n7.pdf.
 49. US EPA. *Report to Congress on the Discharge of Hazardous Wastes to Publicly Owned Treatment Works (The Domestic Sewage Survey) (EPA/530-SW-86-004)*. Washington, DC; 1986.
 50. Karvelas M, Katsoyiannis A, Samara C. Occurrence and fate of heavy metals in the wastewater treatment process. *Chemosphere*. 2003;53(10):1201-1210. doi:10.1016/S0045-6535(03)00591-5.
 51. Morales Yago FJ. El impacto de la actividad turística sobre el paisaje de La Manga del Mar Menor (Murcia). *Estud Geográficos*. 2013;74(275):523-556. doi:10.3989/estgeogr.201319.
 52. García G, Muñoz-Vera A. Characterization and evolution of the sediments of a Mediterranean coastal lagoon located next to a former mining area. *Mar Pollut Bull*. 2015;100(1):249-263. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.08.042.
 53. García-Ayllón S. "Breve Historia de las infraestructuras de La Manga del Mar Menor" - 1ª Parte (1/3). *Arriate*. 2010;2:4-15. <http://www.caminosmurcia.es/boletines/2010-10.pdf>.
 54. Benedicto J, Martínez-Gómez C, Guerrero J, Jornet a, Rodríguez C. Metal contamination in Portman Bay (Murcia, SE Spain) 15 years after the cessation of mining activities. *Ciencias Mar*. 2008;34(3):389-398.
 55. Frazier JM. Bioaccumulation of cadmium in marine organisms. *Environ Health Perspect*. 1979;Vol. 28(February):75-79. doi:10.1289/ehp.792875.
 56. Burger J, Gochfeld M. Age differences in metals in the blood of herring (*Larus argentatus*) and Franklin's (*Larus pipixcan*) gulls. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1997;33(4):436-440. doi:10.1007/s002449900274.
 57. Kahle S, Becker PH. Bird blood as bioindicator for mercury in the environment. *Chemosphere*. 1999;39(14):2451-2457. doi:10.1016/S0045-6535(99)00154-X.
 58. Ackerman JT, Eagles-Smith C a, Takekawa JY, Bluso JD, Adelsbach TL. Mercury concentrations in blood and feathers of prebreeding Forster's terns in relation to space use of San Francisco Bay, California, USA, habitats. *Environ Toxicol Chem*. 2008;27(4):897-908. doi:Doi 10.1897/07-230.1.
 59. Ackerman JT, Eagles-Smith C a., Takekawa JY, Iverson S a. Survival of postfledging Forster's terns in relation to mercury exposure in San Francisco Bay. *Ecotoxicology*. 2008;17(8):789-801. doi:10.1007/s10646-008-0237-6.
 60. Ackerman JT, Eagles-Smith C a. Integrating toxicity risk in bird eggs and chicks: Using chick down feathers to estimate mercury concentrations in eggs. *Environ Sci Technol*. 2009;43(6):2166-2172. doi:10.1021/es803159c.
 61. Monteiro LR, Furness RW. Kinetics, dose-response, and excretion of methylmercury in free-living adult Cory's shearwaters. *Environ Sci Technol*. 2001;35(4):739-746. doi:10.1021/es000114a.
 62. Becares, J; Arcos, J.M. y Oró D. *Migración Y Ecología Espacial de La Gaviota de Audouin En El Mediterráneo Occidental Y Noroeste Africano. Monografía N.º 1 Del Programa Migra.;* 2016.



- https://www.seo.org/boletin/seguimiento/migracion/01_gaviota_audouin/pdf/Migra Gaviota de Audouin.pdf. 1
63. Álamo Carrasco E. Efectos de las jaulas de engorde de dorada y lubina sobre las aves marinas : presencia de especies migratorias , nidificantes e invernantes de la provincia de Alicante , su aprovechamiento alimentario y la influencia sobre sus poblaciones. 2009. <https://www.yumpu.com/es/document/view/48748708/efectos-de-las-jaulas-de-engorde-de-dorada-y-lubina-sobre-las-aves->.
 64. Navarrete-Mier F, Sanz-Lázaro C, Marín A. Does bivalve mollusc polyculture reduce marine fin fish farming environmental impact? *Aquaculture*. 2010;306(1-4):101-107. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.06.013.
 65. Qiu Y-W, Wang W-X. Comparison of mercury bioaccumulation between wild and mariculture food chains from a subtropical bay of Southern China. *Env Geochem Heal*. 2016;38(1):39-49. doi:10.1007/s10653-015-9677-0.
 66. Eagles-Smith C a., Ackerman JT. Mercury bioaccumulation in estuarine wetland fishes: Evaluating habitats and risk to coastal wildlife. *Environ Pollut*. 2014;193:147-155. doi:10.1016/j.envpol.2014.06.015.
 67. Conover MR, Vest JL. Selenium and mercury concentrations in California gulls breeding on the Great Salt Lake, Utah, USA. *Environ Toxicol Chem*. 2009;28(2):324-329. doi:10.1897/08-214.1.
 68. Blanco G, Jiménez B, Frías O, Millan J, Dávila J a. Contamination with nonessential metals from a solid-waste incinerator correlates with nutritional and immunological stress in prefledgling black kites (*Milvus migrans*). *Environ Res*. 2004;94(1):94-101. doi:10.1016/S0013-9351(03)00120-8.
 69. Debacker V, Schiettecatte LS, Jauniaux T, Bouquegneau JM. Influence of age, sex and body condition on zinc, copper, cadmium and metallothioneins in common guillemots (*Uria aalge*) stranded at the Belgian coast. *Mar Environ Res*. 2001;52(5):427-444. doi:10.1016/S0141-1136(01)00096-4.
 70. 03/Nat/E/000061 PL. *Acción C4: Valoración de Los Descartes Pesqueros Y Su Incidencia (Directa O Indirecta), Sobre La Avifauna*. http://ec.europa.eu/environment/life/project/Projects/index.cfm?fuseaction=home.showFile&rep=file&fil=GaviotaMurciana_ValorizacionRecursosPesqueros.pdf. Accessed July 5, 2017.
 71. Sallent Á, Murcia JL, Barberá G. Association of seabirds with commercial fisheries at Murcia Region. In: Vol MURCIA: ANSE; 2007. <http://www.asociacionanse.org/wp-content/uploads/2014/09/poster-seabirds-2.pdf>. Accessed July 14, 2017.
 72. Roesijadi G. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquat Toxicol*. 1992;22(2):81-113. doi:10.1016/0166-445X(92)90026-J.
 73. Wenzel C, Adelung D, Theede H. Distribution and age-related changes of trace elements in Kittiwake *Rissa tridactyla* nestlings from an isolated colony in the German Bight, North Sea. *Sci Total Environ*. 1996;193(1):13-26. doi:10.1016/S0048-9697(96)05320-X.
 74. Ek KH, Morrison GM, Lindberg P, Rauch S. Comparative tissue distribution of metals in birds in Sweden using ICP-MS and laser ablation ICP-MS. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2004;47(2):259-269. doi:10.1007/s00244-004-3138-6.
 75. Eisler R. Mercury hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. *US Fish Wildl Serv*. 1987;85(10):1-63. doi:10.5962/bhl.title.11357.
 76. Hilmy AM, El Domiaty NA, Daabees AY, Alsarha A. The toxicity to Clarias Lazera of copper and zinc applied jointly. *Comp Biochem Physiol Part C Comp Pharmacol*. 1987;87(2):309-



314. doi:10.1016/0742-8413(87)90013-2.
77. Goyer R a. Toxic and essential metal interactions. *Annu Rev Nutr.* 1997;17:37-50. doi:10.1146/annurev.nutr.17.1.37.
78. Elliott JE, Scheuhammer AM, Leighton FA, Pearce PA. Heavy metal and metallothionein concentrations in Atlantic Canadian seabirds. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1992;22(1):63-73. doi:10.1007/BF00213303.
79. Stewart FM, Furness RW, Monteiro LR. Relationships between heavy metal and metallothionein concentrations in lesser black-backed gulls, *Larus fuscus*, and Cory's shearwater, *Calonectris diomedea*. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1996;30(3):299-305. doi:10.1007/s002449900041.
80. Du Laing G, Rinklebe J, Vandecasteele B, Meers E, Tack FMG. Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: A review. *Sci Total Environ.* 2009;407(13):3972-3985. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.025.
81. Oró D. Audouin's gull account. In: Ogilvie MA, ed. *The Birds of Western Palearctic*. Vol Oxford: Oxford University Press; 1998:47-61.
82. Genovart M, Oro D, Bonhomme F. Genetic and morphological differentiation between the two largest breeding colonies of Audouin's Gull *Larus audouinii*. *Ibis (Lond 1859).* 2003;145(3):448-456. doi:10.1046/j.1474-919X.2003.00187.x.
83. Taggart M a., Figuerola J, Green a. J, et al. After the Aznalcóllar mine spill: Arsenic, zinc, selenium, lead and copper levels in the livers and bones of five waterfowl species. *Environ Res.* 2006;100(3):349-361. doi:10.1016/j.envres.2005.07.009.
84. van der Merwe D, Carpenter JW, Nietfeld JC, Miesner JF. Adverse health effects in Canada geese (*Branta canadensis*) associated with waste from zinc and lead mines in the Tri-State Mining District (Kansas, Oklahoma, and Missouri, USA). *J Wildl Dis.* 2011;47(3):650-660. doi:10.7589/0090-3558-47.3.650.
85. Świergosz R, Kowalska A. Cadmium accumulation and its effects in growing pheasants *Phasianus colchicus* (L.). *Environ Toxicol Chem.* 2000;19(11):2742-2750.
86. Martínez-López E, María-Mojica P, Martínez JE, Calvo JF, Romero D, García-Fernández a. J. Cadmium in feathers of adults and blood of nestlings of three raptor species from a nonpolluted Mediterranean forest, southeastern Spain. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2005;74(3):477-484. doi:10.1007/s00128-005-0610-6.
87. Gangoso L, Álvarez-Lloret P, Rodríguez-Navarro A a B, Mateo R, Hiraldo F, Donazar JA. Long-term effects of lead poisoning on bone mineralization in vultures exposed to ammunition sources. *Environ Pollut.* 2009;157(2):569-574. doi:10.1016/j.envpol.2008.09.015.
88. Evers DC. Status assessment and conservation plan for the Common loon (*Gavia immer*) in North America. *US Fish Wildl Serv.* 2004:1-87. https://www.fws.gov/alaska/mbsp/mbm/loons/pdf/Common_Loon_Status_Assessment.pdf.
89. Evers DC, Reaman P, DeSorbo CR, Phifer P. Assessing the impacts of methylmercury on piscivorous wildlife as indicated by the Common Loon. *Unpubl Rep Submitt to Maine Dept.* 2001;2000(March):1-55. http://www.fws.gov/newengland/pdfs/Mercury_loons_2000.pdf.
90. Kenow KP, Gutreuter S, Hines RK, Meyer MW, Fournier F, Karasov WH. Effects of methyl mercury exposure on the growth of juvenile common loons. *Ecotoxicology.* 2003;12(1-4):171-182.
91. Cahill T, Anderson D, Elbert R, Perley B, Johnson D. Elemental profiles in feather samples from a mercury-contaminated lake in central California. *Arch Environ Contam Toxicol.*



- 1998;35:75-81.
92. Ackerman JT, Takekawa JY, Eagles-Smith CA, Iverson SA. Mercury contamination and effects on survival of American avocet and black-necked stilt chicks in San Francisco Bay. *Ecotoxicology*. 2008;17(2):103-116. doi:10.1007/s10646-007-0164-y.
 93. Sarzo B, Torres C, Ferrández M, Jiménez J. Evolución de la población de gaviota de Audouin (*Larus audouinii*) en la Comunidad Valenciana: el Plan de Acción. In: *13th MEDMARAVIS Pan-Mediterranean Symposium*. Vol Alghero (Cerdeña); 2011. <http://www.agroambient.gva.es/documents/91061501/109950963/Evolución+de+la+población+de+la+gaviota+de+Audouin+Larus+audouinii+en+la+Comunidad+Valenciana/237738c4-d6c6-4271-a318-16dff131c68>. Accessed September 8, 2017.
 94. Eisler R. Zinc hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. In: *Contaminant Hazard Reviews Report 26; Biological Report 10*. Vol Laurel, MD: U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service; 1993. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5200116>. Accessed July 10, 2017.
 95. Kaji T, Kawatani R, Takata M, et al. The effects of cadmium, copper or zinc on formation of embryonic chick bone in tissue culture. *Toxicology*. 1988;50(3):303-316. doi:10.1016/0300-483X(88)90046-7.
 96. Finley MT, Dieter MP. Influence of laying on lead accumulation in bone of mallard ducks. *J Toxicol Environ Health*. 1978;4(1):123-129. doi:10.1080/15287397809529649.
 97. Brasso RL, Cristol D a. Effects of mercury exposure on the reproductive success of tree swallows (*Tachycineta bicolor*). *Ecotoxicology*. 2008;17(2):133-141. doi:10.1007/s10646-007-0163-z.
 98. Evers DC, Savoy LJ, DeSorbo CR, et al. Adverse effects from environmental mercury loads on breeding common loons. *Ecotoxicology*. 2008;17(2):69-81. doi:10.1007/s10646-007-0168-7.
 99. Jackson AK, Evers DC, Etterson M a, et al. Mercury exposure affects the reproductive success of a free-living terrestrial songbird, the Carolina Wren (*Thryothorus ludovicianus*). *The Auk*. 2011;128(4):759-769. doi:10.1525/auk.2011.11106.
 100. Evers DC, Burgess NM, Champoux L, et al. Patterns and interpretation of mercury exposure in freshwater avian communities in northeastern North America. *Ecotoxicology*. 2005;14(1-2):193-221. doi:10.1007/s10646-004-6269-7.
 101. Burnham KKP, Anderson DRD. *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach (2nd Ed)*. Vol 172. Springer-Verlag; 2002. doi:10.1016/j.ecolmodel.2003.11.004.
 102. Gilbertson M, Kubiak T, Ludwig J, Fox G. Great lakes embryo mortality, edema, and deformities syndrome (GLEMEDS) in colonial fish-eating birds: Similarity to chick-edema disease. *J Toxicol Environ Health*. 1991;33(4):455-520. doi:10.1080/15287399109531538.
 103. Elliott JE, Martin PA. Chlorinated hydrocarbons and shell thinning in eggs of (Accipiter) hawks in Ontario, 1986-1989. *Environ Pollut*. 1994;86(2):189-200. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15091636>. Accessed July 13, 2017.
 104. McCarty JP, Secord AL. Nest-Building Behavior in PCB-Contaminated Tree Swallows. *The Auk*. 1999;116(1):55-63. <http://www.jstor.org/stable/4089453>. Accessed July 11, 2017.
 105. Fernie KJ, Shutt JL, Letcher RJ, Ritchie JI, Sullivan K, Bird DM. Changes in reproductive courtship behaviors of adult american kestrels (*Falco sparverius*) exposed to environmentally relevant levels of the polybrominated diphenyl ether mixture, DE-71. *Toxicol Sci*. 2008;102(1):171-178. doi:10.1093/toxsci/kfm295.
 106. Mora M a., Auman HJ, Ludwig JP, Giesy JP, Verbrugge D a., Ludwig ME. Polychlorinated



- biphenyls and chlorinated insecticides in plasma of Caspian terns: Relationships with age, productivity, and colony site tenacity in the great lakes. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1993;24(3):320-331. doi:10.1007/BF01128730.
107. Fry DM. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environ Health Perspect*. 1995;103(SUPPL. 7):165-171. doi:10.1289/ehp.95103s7165.
 108. Henny CJ, Elliott J. Toxicology. In: Bildstein KL, Bird DM, eds. *Raptor Research and Management Techniques*. Vol Blaine, Washington, USA: Hancock House Publisher Ltd.; 2007:329-350.
 109. García-Fernández AJ, Calvo JF, Martínez-López E, María-Mojica P, Martínez JE. Raptor ecotoxicology in Spain: a review on persistent environmental contaminants. *Ambio*. 2008;37(6):432-439. doi:10.1579/0044-7447(2008)37[432:reisar]2.0.co;2.
 110. Van den Steen E, Pinxten R, Jaspers VLB, et al. Brominated flame retardants and organochlorines in the European environment using great tit eggs as a biomonitoring tool. *Environ Int*. 2009;35(2):310-317. doi:10.1016/j.envint.2008.08.002.
 111. Martinez-Lopez E, Maria-Mojica P, Martinez JE, et al. Organochlorine residues in booted eagle (*Hieraaetus pennatus*) and goshawk (*Accipiter gentilis*) eggs from southeastern Spain. *Environ Toxicol Chem*. 2007;26(11):2373-2378. doi:10.1897/07-057R.1.
 112. Gómez-Ramírez P, Martínez-López E, Maria-Mojica P, et al. Organochlorine pesticides levels in eagle owl (*Bubo bubo*) eggs: Temporal trends and sublethal effects. *Toxicol Lett*. 2010;196:S129. doi:10.1016/j.toxlet.2010.03.451.
 113. O'Connor JS, Dewling RT. Indices of marine degradation: Their utility. *Environ Manage*. 1986;10(3):335-343. doi:10.1007/BF01867257.
 114. Rapport DJ. What Constitutes Ecosystem Health? *Perspect Biol Med*. 1989;33(1):120-132. doi:10.1353/pbm.1990.0004.
 115. Peakall D. *Animal Biomarkers as Pollution Indicators*. Vol Chapman &. Dordrecht: Springer Netherlands; 1992. doi:10.1007/978-94-011-2346-4.
 116. National Research Council. *Issues in Risk Assessment*. Washington, D.C.: National Academies Press; 1993. doi:10.17226/2078.
 117. Gonzalez LM, Hiraldo F. Organochlorine and heavy metal contamination in the eggs of the Spanish Imperial Eagle (*Aquila (heliaca) adalberti*) and accompanying changes in eggshell morphology and chemistry. *Environ Pollut*. 1988;51(4):241-258. doi:10.1016/0269-7491(88)90165-0.
 118. Oro D, Pradel R, Lebreton J-D. Food availability and nest predation influence life history traits in Audouin's gull, *Larus audouinii*. *Oecologia*. 1999;118(4):438-445. doi:10.1007/s004420050746.
 119. Anderson DW, Hickey JJ. Oological data on egg and breeding characteristic of Brown Pelicans. *Wilson Bull*. 1970;82:14-28. <https://sora.unm.edu/sites/default/files/journals/wilson/v082n01/p0014-p0028.pdf>. Accessed July 13, 2017.
 120. Anderson DW, Hickey JJ. Eggshell changes in certain North American birds. *Proc XV Int Ornithol Congr*. 1972:514-540. file:///C:/Users/PEDRO/Downloads/1972 Anderson - Hickey IOC 15.pdf. Accessed July 13, 2017.
 121. Romanoff AL, Romanoff AJ. *The Avian Egg*. Vol (John Wiley & Son Inc., ed.). New York; 1949.
 122. Rothstein SI. Eggshell Thickness and Its Variation in the Cedar Waxwing. *Wilson Bull*. 1972;84:469-474. doi:10.2307/4160259.



123. Kreitzer JF. The effect of embryonic development on the thickness of the eggshells of the coturnix quail. *Poult Sci.* 1972;51(5):1764-1765. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5221197>. Accessed July 13, 2017.
124. Booth DT, Rahn H. Factors Modifying Rate of Water Loss from Birds' Eggs during Incubation. *Physiol Zool.* 1990;63(4):697-709. doi:10.2307/30158171.
125. Romanoff AL, Romanoff AJ. *Biochemistry of the Avian Embryo: A Quantitative Analysis of Prenatal Development*. Vol (John Wiley & Sons, ed.). New York: Interscience Publishers; 1967. https://books.google.es/books/about/Biochemistry_of_the_avian_embryo.html?id=emW1AAAAIAAJ&redir_esc=y. Accessed July 11, 2017.
126. Helander B, Olsson A, Bignert A, Asplund L, Litzén K. The role of DDE, PCB, coplanar PCB and eggshell parameters for reproduction in the white-tailed sea eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Sweden. *Ambio.* 2002;31(5):386-403. doi:10.1579/0044-7447-31.5.386.
127. Gómez-Ramírez P, Martínez-López E, García-Fernández a. J, Zweers a. J, van den Brink NW. Organohalogen exposure in a Eurasian Eagle owl (*Bubo bubo*) population from Southeastern Spain: Temporal-spatial trends and risk assessment. *Chemosphere.* 2012;88(8):903-911. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.03.014.
128. Ratcliffe D a. Changes Attributable to Pesticides in Egg Breakage Frequency and Eggshell Thickness in Some British Birds. *J Appl Ecol.* 1970;7(1):67-115. doi:10.2307/2401613.
129. Springer MA. Pesticide Analysis, Egg and Eggshell Characteristics of Red-Tailed Hawk Eggs. *Ohio J Sci.* 1980;80(5):206-210. <http://hdl.handle.net/1811/22720>.
130. Warham J. The petrel egg. In: *The Petrels : Their Ecology and Breeding Systems*. Vol San Diego: Academic Press; 1990:271-302.
131. Barrett RT, Skaare JU, Norheim G, Vader W, Frøslie A. Persistent organochlorines and mercury in eggs of Norwegian seabirds 1983. *Environ Pollut Ser A, Ecol Biol.* 1985;39(1):79-93. doi:10.1016/0143-1471(85)90064-9.
132. Becker PH. Seabirds as monitor organisms of contaminants along the German North Sea coast. *Helgoländer Meeresunter.* 1989;43:395-403.
133. Furness RW. Birds as monitors of pollutants. In: *Birds as Monitors of Environmental Change*. Vol Dordrecht: Springer Netherlands; 1993:86-143. doi:10.1007/978-94-015-1322-7_3.
134. Arinç E, Şen A. Hepatic cytochrome P4501A and 7-ethoxyresorufin O-deethylase induction in mullet and common sole as an indicator of toxic organic pollution in Izmir Bay, Turkey. *Mar Environ Res.* 1999;48(2):147-160. doi:10.1016/S0141-1136(99)00038-0.
135. Burger J. Heavy metals in avian eggshells: Another excretion method. *J Toxicol Environ Health.* 1994;41(2):207-220. doi:10.1080/15287399409531837.
136. Scheuhammer a M. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: a review. *Environ Pollut.* 1987;46(4):263-295. doi:10.1016/0269-7491(87)90173-4.
137. Ayaş Z, Kkan HÇEL, Aksu ML. Lead (Pb) and Copper (Cu) Concentration in the Eggshells of Audouin ' s Gulls (*Larus audouinii*) in Turkey. *J Zool.* 2008;32:379-384.
138. Mora M a. Heavy metals and metalloids in egg contents and eggshells of passerine birds from Arizona. *Environ Pollut.* 2003;125(3):393-400. doi:10.1016/S0269-7491(03)00108-8.
139. Dauwe T, Bervoets L, Blust R, Pinxten R, Eens M. Are eggshells and egg contents of Great and Blue Tits suitable as indicators of heavy metal pollution? *Belgian J Zool.* 1999;129(2):439-447.
140. Ikemoto T, Kunito T, Tanabe S, Tsurumi M, Sato F, Oka N. Non-destructive monitoring of



- trace element levels in short-tailed albatrosses (*Phoebastria albatrus*) and black-footed albatrosses (*Phoebastria nigripes*) from Torishima Island, Japan using eggs and blood. *Mar Pollut Bull.* 2005;51(8-12):889-895. doi:10.1016/j.marpolbul.2005.06.003.
141. Kim J, Oh J-M. Trace element concentrations in eggshells and egg contents of black-tailed gull (*Larus crassirostris*) from Korea. *Ecotoxicology.* 2014;23(7):1147-1152. doi:10.1007/s10646-014-1256-0.
 142. Morera M, Sanpera C, Crespo S, Jover L, Ruiz X. Inter- and intraclutch variability in heavy metals and selenium levels in Audouin's Gull eggs from the Ebro Delta, Spain. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1997;33(1):71-75. doi:10.1007/s002449900225.
 143. Richards MP. Trace mineral metabolism in the avian embryo. *Poult Sci.* 1997;76(1):152-164.
 144. Gochfeld M. Environmental contamination and toxicology spatial patterns in a bioindicator: Heavy Metal and Selenium concentration in eggs of Herring Gulls (*Larus argentatus*) in the New York Bight. *Arch Env Contam Toxicol.* 1997;33:63-70.
 145. Metcheva R, Yurukova L, Teodorova SE. Biogenic and toxic elements in feathers, eggs, and excreta of Gentoo penguin (*Pygoscelis papua ellsworthii*) in the Antarctic. *Environ Monit Assess.* 2011;182(1-4):571-585. doi:10.1007/s10661-011-1898-9.
 146. Lam JCW, Tanabe S, Lam MHW, Lam PKS. Risk to breeding success of waterbirds by contaminants in Hong Kong: evidence from trace elements in eggs. *Environ Pollut.* 2005;135:481-490. doi:10.1016/j.envpol.2004.11.021.
 147. Lam JCW, Tanabe S, Lam MHW, Lam PKS. Risk to breeding success of waterbirds by contaminants in Hong Kong: evidence from trace elements in eggs. *Environ Pollut.* 2005;135(3):481-490. doi:10.1016/j.envpol.2004.11.021.
 148. Leonzio C, Lambertini M, Massi A, Focardi S, Fossi C. *An Assessment of Pollutants in Eggs of Audouin's Gull (Larus Audouinii), a Rare Species of the Mediterranean Sea.* Vol 78. Elsevier Pub. Co; 1989. http://www.academia.edu/17062032/An_assessment_of_pollutants_in_eggs_of_audouin_s_gull_Larus_audouinii_a_rare_species_of_the_Mediterranean_sea. Accessed July 13, 2017.
 149. Becker PH. Biomonitoring with birds. In: Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG, eds. *Trace Metals and Other Contaminants in the Environment.* Vol 6. Elsevier Science Ltd.; 2003:677-736. doi:10.1016/S0927-5215(03)80149-2.
 150. Mineau P, Fox GA, Norstrom RJ, Weseloh DV, Hallen DJ, Ellenton JA. Using the Herring Gull to monitor levels and effects of organochlorine contamination in the Canadian Great Lakes. In: Nriagu JO, Simmons MS, eds. *Toxic Contaminants in the Great Lakes.* Vol New York: John Wiley; 1984:426--452.
 151. Weseloh DV, Custer TW, Braune BM. Organochlorine contaminants in eggs of common terns from the Canadian Great Lakes, 1981. *Environ Pollut.* 1989;59(2):141-160. doi:10.1016/0269-7491(89)90102-4.
 152. Weseloh D V, Mineau P, Struger J. Geographical distribution of contaminants and productivity measures of herring gulls in the Great Lakes: Lake Erie and connecting channels 1978/79. *Sci Total Environ.* 1990;91:141-159. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2108495>. Accessed July 13, 2017.
 153. Ryckman DP, Weseloh DVC, Bishop CA. Contaminants in Herring Gull eggs from the Great Lakes: 25 years of monitoring levels and effects. *Minist Public Work Government Serv Canada Gt Lakes Fact Sheet.* 1997:1-12.
 154. Ryckman DP, Weseloh DV, Hamr P, et al. Spatial and Temporal Trends in Organochlorine



- Contamination and Bill Deformities in Double-Crested Cormorants (*Phalacrocorax Auritus*) from the Canadian Great Lakes. *Environ Monit Assess.* 1998;53(1):169-195. doi:10.1023/A:1006088130262.
155. Muntaner J. La Gaviota de Audouin (*Larus audouinii*): Visión general de la especie y situación en las Islas Baleares hasta 2003. *Doc Tècnics Coservació.* 2003;II(10). doi:10.1017/CBO9781107415324.004.
156. Lambertini M, Italiana L, Uccelli P. International Action Plan for Audouin's gull (*Larus audouinii*). 1994. http://ec.europa.eu/environment/nature/conservation/wildbirds/action_plans/docs/laurus_audouinii.pdf.
157. Pedrocchi V, Oro D, González-Solís J, Ruiz X, Jover L. Differences in diet between the two largest breeding colonies of Audouin's gulls: the effects of fishery activities. *Sci Mar.* 2002;66(3):313-320. doi:10.3989/scimar.2002.66n3313.
158. Martínez Menchón M. Las ramblas del Campo de Cartagena. Problemática ambiental de la Laguna del Mar Menor. *Rev Murc Antropol.* 2007;14:63-76.
159. Palanques A., Díaz JI. Contaminación de metales pesados en los sedimentos superficiales de la plataforma continental de Barcelona (Mediterráneo noroccidental). *Rev Soc Geol España.* 1990;3:357-371.
160. Eeva T, Lehtikoinen E. Egg shell quality, clutch size and hatching success of the great tit (*Parus major*) and the pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca*) in an air pollution gradient. *Oecologia.* 1995;102(3):312-323. doi:10.1007/BF00329798.
161. Edelstein S, Fullmer CS, Wasserman RH. Gastrointestinal absorption of lead in chicks: involvement of the cholecalciferol endocrine system. *J Nutr.* 1984;114(4):692-700. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6325646>.
162. Pattee OH. Eggshell thickness and reproduction in American kestrels exposed to chronic dietary lead. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1984;13(1):29-34. doi:10.1007/BF01055643.
163. Dauwe T, Janssens E, Kempenaers B, Eens M. The effect of heavy metal exposure on egg size, eggshell thickness and the number of spermatozoa in blue tit *Parus caeruleus* eggs. *Environ Pollut.* 2004;129(1):125-129. doi:10.1016/j.envpol.2003.09.028.
164. Peakall DB, Gilman a. P. Limitations of expressing organochlorine levels in eggs on a lipid-weight basis. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1979;23(1):287-290. doi:10.1007/BF01769958.
165. Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol.* 1990;21(1):51-88. doi:10.3109/10408449009089873.
166. Van Den Berg M, Birnbaum L, Bosveld ATC, et al. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect.* 1998;106(12):775-792. doi:10.1289/ehp.98106775.
167. Luca-abbott SBDE, Wong BSF, Peakall DB, et al. Review of Effects of Water Pollution on the Breeding Success of Waterbirds, with Particular Reference to Ardeids in Hong Kong. *Ecotoxicology.* 2001;10(6):327-349. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1012288811808>.
168. Martínez-López. E. Evaluación de la exposición a contaminantes ambientales persistentes (cadmio, plomo y compuestos organoclorados) en rapaces forestales, y uso de células sanguíneas para evaluar sus efectos. *Tesis Dr Eur Univ Murcia.* 2005:305.
169. Gonzalez MJ, Fernandez MA, Hernandez LM. Levels of chlorinated insecticides, total PCBs and PCB congeners in Spanish Gull eggs. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1991;20(3):343-348. doi:10.1007/BF01064400.



170. Pastor D, Ruiz X, Barcelo D, Albaiges J. Dioxins, furans and AHH-active PCB congeners in eggs of two gull species from the Western Mediterranean. *Chemosphere*. 1995;31(6):3397-3411. doi:10.1016/0045-6535(95)00192-B.
171. Morales L, Martrat MG, Olmos J, et al. Persistent Organic Pollutants in gull eggs of two species (*Larus michahellis* and *Larus audouinii*) from the Ebro delta Natural Park. *Chemosphere*. 2012;88(11):1306-1316. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.03.106.
172. Goutner V, Albanis T, Konstantinou I, Papakonstantinou K. PCBs and Organochlorine Pesticide Residues in Eggs of Audouin's Gull (*Larus audouinii*) in the North-Eastern Mediterranean. *Mar Pollut Bull*. 2001;42(5):377-388. doi:10.1016/S0025-326X(00)00165-X.
173. Pastor D, Jover L, Ruiz X, Albaiges J. Monitoring organochlorine pollution in Audouin's Gull eggs: the relevance of sampling procedures. *Sci Total Environ*. 1995;162(2-3):215-223. doi:10.1016/0048-9697(95)04466-E.
174. Fångström B, Athanasiadou M, Athanassiadis I, et al. Polybrominated diphenyl ethers and traditional organochlorine pollutants in fulmars (*Fulmarus glacialis*) from the Faroe Islands. *Chemosphere*. 2005;60(7):836-843. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.01.065.
175. Jörundsdóttir H, Bignert A, Svavarsson J, Nygård T, Weihe P, Bergman Å. Assessment of emerging and traditional halogenated contaminants in Guillemot (*Uria aalge*) egg from North-Western Europe and the Baltic Sea. *Sci Total Environ*. 2009;407(13):4174-4183. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.03.026.
176. Henriksen EO, Gabrielsen GW, Trudeau S, Wolkers J, Sagerup K, Skaare JU. Organochlorines and possible biochemical effects in glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) from Bjornoya, the Barents Sea. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2000;38(2):234-243. doi:10.1007/s002449910031.
177. Huertas D, Grimalt JO, Jover L, Sanpera C, Ruiz X. Organochlorine compounds in Purple Heron eggs (*Ardea purpurea*) nesting in sites located around a chlor-alkali plant (Ebro River). *Sci Total Environ*. 2015. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.037.
178. Sánchez-Gelabert JI, Nuñez Navarro E, Navalón Madrigal P, Valor Herencia I. Plaguicidas organoclorados (aldrín, clordano, DDT, dieldrín, endrín, heptacloro, mirex, toxafeno y hexaclorobenceno). In: Calidad Ambiental, ed. *Compuestos Orgánicos Persistentes En La Región de Murcia (I)*. Vol Región de Murcia.: Contraste Publicaciones; 2008:28-34.
179. Martijn a, Bakker H, Schreuder RH. Soil persistence of DDT, dieldrin, and lindane over a long period. *Bull Environ Contam Toxicol*. 1993;51(2):178-184. doi:10.1007/BF00198878.
180. Henny CJ, Blus LJ, Stafford CJ. Effects of Heptachlor on American Kestrels in the Columbia Basin, Oregon. *J Wildl Manage*. 1983;47(4):1080-1087. doi:10.2307/3808167.
181. B.O.E. nº 41. ORDEN de 4 de febrero de 1994 por la que se prohíbe la comercialización y utilización de plaguicidas de uso ambiental que contienen determinados ingredientes activos peligrosos. 1993:5132.
182. WHO Task Group on Aldrin and Dieldrin., United Nations Environment Programme., International Labour Organisation., World Health Organization., International Program on Chemical Safety. *Aldrin and Dieldrin*. World Health Organization; 1989.
183. Navarro S, Barba A, Cámara MA, Galindo L. Residuos de insecticidas organoclorados en aguas del río Segura. Murcia. 1980. *An la Univ Murcia*. 1985:189-198. <http://revistas.um.es/analesumciencias/article/view/100461>. Accessed October 17, 2015.
184. Albanis T., Goutner V, Konstantinou I., Frigis K. Organochlorine contaminants in eggs of the yellow-legged gull (*Larus cachinnans michahellis*) in the North Eastern Mediterranean: is this gull a suitable biomonitor for the region? *Environ Pollut*. 2003;126(2):245-255. doi:10.1016/S0269-7491(03)00188-X.



185. Antoniadou V, Konstantinou IK, Goutner V, Sakellarides TM, Albanis TA, Bintoudi E. PCB levels and accumulation patterns in waterbird eggs and in their prey at Lake Kerkini, a north-eastern Mediterranean wetland of international importance. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2007;53(2):249-260. doi:10.1007/s00244-006-0176-2.
186. Ross PS, Ellis GM, Ikononou MG, Barrett-Lennard LG, Addison RF. High PCB Concentrations in Free- Ranging Pacific Killer Whales, *Orcinus orca*: Effects of Age, Sex and Dietary Preference. *Mar Pollut Bull*. 2000;40(6):504-515. doi:10.1016/S0025-326X(99)00233-7.
187. Walker CH. Persistent pollutants in fish-eating sea birds — bioaccumulation, metabolism and effects. *Aquat Toxicol*. 1990;17(4):293-324. doi:10.1016/0166-445X(90)90014-G.
188. D.O.C.E. nº 269/56. Directiva 85/467/CEE del Consejo, de 1 de octubre de 1985, que modifica por sexta vez (bifenilos policlorados/terfenilos policlorados) la Directiva 76/769/CEE, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de l. 1985. <http://data.europa.eu/eli/dir/1985/467/oj>.
189. Sánchez-Gelabert JI, Núñez-Navarro E, Valor Herencia I. Bifenilos policlorados (PCBs). In: Sánchez-Gelabert JI, Núñez-Navarro E, Valor Herencia I, eds. *Compuestos Orgánicos Persistentes En La Región de Murcia (I)*. Vol Murcia. Spain.: Calidad Ambiental, Comunidad Autónoma de la Región de Murcia; 2008:22-25.
190. Bachour G, Failing K, Georgii S, Elmadfa I, Brunn H. Species and organ dependence of PCB contamination in fish, foxes, roe deer, and humans. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1998;35(4):666-673. doi:10.1007/s002449900429.
191. Costalago D, Palomera I. Feeding of European pilchard (*Sardina pilchardus*). *Sci Mar*. 2014;78(1).
192. Goksøyr A. Cytochrome P450 in marine mammals: isozyme forms, catalytic functions, and physiological regulations. *Dev Mar Biol*. 1995;4:629-639. doi:10.1016/S0163-6995(06)80062-4.
193. Norstrom RJ, Muir DCG, Ford CA, Simon M, Macdonald CR, Béland P. Indications of P450 monooxygenase activities in beluga (*Delphinapterus leucas*) and narwhal (*Monodon monoceros*) from patterns of PCB, PCDD and PCDF accumulation. *Mar Environ Res*. 1992;34(1-4):267-272. doi:10.1016/0141-1136(92)90119-7.
194. Tanabe S, Watanabe S, Kan H, Tatsukawa R. Capacity and mode of PCB metabolism in small cetaceans. *Mar Mammal Sci*. 1988;4(2):103-124. doi:10.1111/j.1748-7692.1988.tb00191.x.
195. Watanabe S, Shimada T, Nakamura S, et al. Specific profile of liver microsomal cytochrome P-450 in Dolphin and Whales. *Mar Environ Res*. 1989;27(1):51-65. doi:10.1016/0141-1136(89)90018-4.
196. Gebbink WA, Letcher RJ, Burgess NM, et al. Perfluoroalkyl carboxylates and sulfonates and precursors in relation to dietary source tracers in the eggs of four species of gulls (*Larids*) from breeding sites spanning Atlantic to Pacific Canada. *Environ Int*. 2011;37(7):1175-1182. doi:10.1016/j.envint.2011.04.003.
197. Hoffman DJ, Rice CP, Kubiak T. PCBs and Dioxins in birds. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, eds. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Lewis, Boca Raton, Florida: Lewis Publishers; 1996:165-209. <https://www.crcpress.com/Environmental-Contaminants-in-Wildlife-Interpreting-Tissue-Concentrations/Meador/p/book/9781566700719>. Accessed July 12, 2017.
198. Tanabe S. A need for reevaluation of PCB toxicity. *Mar Pollut Bull*. 1989;20:247-248.
199. Custer TW, Custer CM, Hines RK, et al. Organochlorine contaminants and reproductive success of double-crested cormorants from Green Bay, Wisconsin, USA. *Environ Toxicol Chem*. 1999;18(6):1209-1217. doi:10.1002/etc.5620180620.



200. Blus LJ, Belisle AA, Prouty RM. Relations of the brown pelican to certain environmental pollutants. *Pestic Monit J.* 1974;7(3/4):181-194. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5221219>. Accessed July 12, 2017.
201. Wiemeyer SN, Lamont TG, Bunck CM, et al. Organochlorine pesticide, polychlorobiphenyl, and mercury residues in bald eagle eggs (1969-79) and their relationships to shell thinning and reproduction. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1984;13(5):529-549. doi:10.1007/BF01056332.
202. Newton I. Determination of critical pollutant levels in wild populations, examples from organochlorine insecticides in birds of prey. *Environ Pollut.* 1988;55(1):29-40. doi:10.1016/0269-7491(88)90157-1.
203. Strause KD, Zwiernik MJ, Im SH, et al. Risk assessment of great horned owls (*Bubo virginianus*) exposed to polychlorinated biphenyls and DDT along the Kalamazoo River, Michigan, USA. *Environ Toxicol Chem.* 2007;26(7):1386-1398. doi:10.1897/06-382R.1.
204. Bertolero A, Genovart M, Martínez-Abraín A, et al. *Gaviotas Cabecinegra, Picoфина, de Audouin Y Tridáctila, Y Gavión Atlántico En España. Población En 2007 Y Método de Censo.* Madrid: SEO/BirdLife.; 2009. https://www.seo.org/wp-content/uploads/2012/04/22_gaviotas.pdf.
205. Sánchez MA, Guardiola A, Gonzalez G, Sánchez JA, Eguía S. *Plan de Conservación de La Gaviota de Audouin En La Región de Murcia.* Murcia. España.: Documento de trabajo de la DGMN.Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia; 2000.
206. Blanco JC, Eguía S, Gonzalez Barberá G. *Vigilancia Y Seguimiento de La Colonia de Gaviota de Audouin de La Isla Grossa Durante La Temporada 2001.* Murcia. España.: Documento de trabajo.TRAGSA-DGMN.Consejería de Agricultura, Agua y M. Ambiente. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.; 2001.
207. Eguía S. *Vigilancia Y Seguimiento de La Colonia de Gaviota de Audouin de Isla Grossa Durante La Temporada 2002.* Murcia. España.: Documento de trabajo.MayuyoC.B.-DGMN.Consejería de Agricultura, Agua y M. Ambiente. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia; 2002.
208. Nisbet ICT. Organochlorines, Reproductive Impairment and Declines in Bald Eagle *Haliaeetus leucocephalus* Populations: Mechanisms and Dose-response Relationships. In: Meyburg BU, Chancellor RD, eds. *Raptors in the Modern World* . Vol Berlin, Germany: WWGBP; 1989:483-489. http://www.raptors-international.org/book/raptors_in_the_modern_world/Nisbet_1989_483-490.pdf.
209. Henny CJ, Herron GB. DDE, selenium, mercury, and white-faced ibis reproduction at Carson Lake, Nevada. *J Wildl Manage.* 1989;53(4):1032-1045. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/5222309>. Accessed July 14, 2017.
210. Custer TW, Mitchell CA. Organochlorine Contaminants and Reproductive Success of Black Skimmers in South Texas, 1984. *J F Ornithol.* 1987;58(4):480-489. doi:10.2307/4513272.
211. Mendenhall VM, Klaas EE, McLane MAR. Breeding success of barn owls (*Tyto alba*) fed low levels of DDE and dieldrin. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1983;12(2):235-240. doi:10.1007/BF01059586.
212. Newton I, Bogan J. Organochlorine residues, eggshell thinning and hatching success in British sparrowhawks. *Nature.* 1974;249(5457):582-583. doi:10.1038/249582a0.
213. Mañosa S, Mateo R, Freixa C, Guitart R. Persistent organochlorine contaminants in eggs of northern goshawk and Eurasian buzzard from northeastern Spain: Temporal trends related to changes in the diet. *Environ Pollut.* 2003;122(3):351-359. doi:10.1016/S0269-7491(02)00334-2.



214. Fox GA. Eggshell Quality: Its Ecological and Physiological Significance in a DDE-Contaminated Common Tern Population. *Wilson Bull.* 1976;88(3):459-477. doi:10.2307/4160783.
215. Tullett SG, Board RG, Love G, Perrott HR, Scott VD. Vaterite Deposition During Eggshell Formation in the Cormorant, Gannet and Shag, and in "Shell-less" Eggs of the Domestic Fowl. *Acta Zool.* 1976;57(2):79-87. doi:10.1111/j.1463-6395.1976.tb00213.x.
216. Tharapoom K. Causes and consequences of variations in eggshells in the Lesser Black-Backed gull. *Tesis Dr Univ Glas.* 2006. <http://theses.gla.ac.uk/5346/>.
217. Hong CS, Xiao J, Bush B, Shaw SD. Environmental occurrence and potential toxicity of planar, mono-, and di-ortho polychlorinated biphenyls in the biota. *Chemosphere.* 1998;36(7):1637-1651. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9503581>. Accessed July 14, 2017.
218. Brunström B. Mono-ortho-chlorinated chlorobiphenyls: toxicity and induction of 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity in chick embryos. *Arch Toxicol.* 1990;64(3):188-192. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2372232>. Accessed July 14, 2017.
219. Powell DC, Aulerich RJ, Meadows JC, et al. Effects of 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) injected into the yolks of chicken (*Gallus domesticus*) eggs prior to incubation. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1996;31(3):404-409. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8854835>. Accessed July 14, 2017.
220. Jin X, Kennedy SW, Di Muccio T, Moon TW. Role of Oxidative Stress and Antioxidant Defense in 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl-Induced Toxicity and Species-Differential Sensitivity in Chicken and Duck Embryos. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2001;172(3):241-248. doi:10.1006/taap.2001.9150.
221. Dudka S, Miller WP. Accumulation of potentially toxic elements in plants and their transfer to human food chain. *J Environ Sci Heal Part B.* 1999;34(4):681-708. doi:10.1080/03601239909373221.
222. Jarup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 2003;68(1):167-182. doi:10.1093/bmb/ldg032.
223. Metcheva R, Yurukova L, Bezrukov V, Beltcheva M, Yankov Y, Dimitrov K. Trace and toxic elements accumulation in food Chain representatives at Livingston Island (Antarctica). *Int J Biol.* 2010;2(1):155-161. <http://www.ccsenet.org/journal/index.php/ijb/article/view/3201/4029>.
224. Lodenius M, Solonen T. The use of feathers of birds of prey as indicators of metal pollution. *Ecotoxicology.* 2013;22(9):1319-1334. doi:10.1007/s10646-013-1128-z.
225. Adriano DC. Environmental Contamination and Regulation. In: *Trace Elements in Terrestrial Environments.* Vol New York, NY: Springer New York; 2001:91-131. doi:10.1007/978-0-387-21510-5_4.
226. Burger J, Gochfeld M. Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *Sci Total Environ.* 2000;257(1):37-52. doi:10.1016/S0048-9697(00)00496-4.
227. Dauwe T, Bervoets L, Blust R, Pinxten R, Eens M. Can Excrement and Feathers of Nestling Songbirds Be Used as Biomonitors for Heavy Metal Pollution? *Arch Environ Contam Toxicol.* 2000;39(4):541-546. doi:10.1007/s002440010138.
228. Furness RW, Greenwood JJD, Jarvis PJ. Can birds be used to monitor the environment? In: *Birds as Monitors of Environmental Change.* Vol Dordrecht: Springer Netherlands; 1993:1-41. doi:10.1007/978-94-015-1322-7_1.



229. Appelquist H, Asbirk S, Drabaek I. Mercury monitoring: Mercury stability in bird feathers. *Mar Pollut Bull.* 1984;15(1):22-24. doi:10.1016/0025-326X(84)90419-3.
230. Burger J, Gochfeld M. Lead and cadmium accumulation in eggs and fledgling seabirds in the New York bight. *Environ Toxicol Chem.* 1993;12(2):261-267. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620120209>.
231. Rose GA, Parker GH. Effects of smelter emissions on metal levels in the plumage of ruffed grouse near Sudbury, Ontario, Canada. *Can J Zool.* 1982;60(11):2659-2667. doi:10.1139/z82-342.
232. Fasola M, Movalli P a., Gandini C. Heavy metal, organochlorine pesticide, and PCB residues in eggs and feathers of herons breeding in northern Italy. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1998;34(1):87-93. doi:10.1007/s002449900289.
233. Furness RW, Muirhead SJ, Woodburn M. Using bird feathers to measure mercury in the environment: Relationships between mercury content and moult. *Mar Pollut Bull.* 1986;17(1):27-30. doi:10.1016/0025-326X(86)90801-5.
234. García-Fernández AJ, Espín S, Martínez-López. E. Feathers as a biomonitoring tool of polyhalogenated compounds: A review. *Environ Sci Technol.* 2013;47(7):3028-3043. doi:10.1021/es302758x.
235. Burger J, Gochfeld M. Lead and behavioral development: Parental compensation for behaviorally impaired chicks. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996;55(3):339-349. doi:10.1016/S0091-3057(96)00103-7.
236. Fournier F, Karasov WH, Kenow KP, Meyer MW, Hines RK. The oral bioavailability and toxicokinetics of methylmercury in common loon (*Gavia immer*) chicks. *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol.* 2002;133(3):703-714. doi:10.1016/S1095-6433(02)00140-X.
237. Burger J, Gochfeld M, Jeitner C, et al. Mercury and other metals in eggs and feathers of glaucous-winged gulls (*Larus glaucescens*) in the Aleutians. *Environ Monit Assess.* 2009;152(1-4):179-194. doi:10.1007/s10661-008-0306-6.
238. Braune BM, Gaskin DE. A mercury budget for the Bonaparte's Gull during autumn moult. *Ornis Scand.* 1987;18(4):244-250.
239. Burger J, Gochfeld M. Metals in albatross feathers from midway atoll: influence of species, age, and nest location. *Environ Res.* 2000;82(3):207-221. doi:10.1006/enrs.1999.4015.
240. Jaspers V, Dauwe T, Pinxten R, Bervoets L, Blust R, Eens M. The importance of exogenous contamination on heavy metal levels in bird feathers. A field experiment with free-living great tits, *Parus major*. *J Environ Monit.* 2004;6:356-360. doi:10.1039/b314919f.
241. Goutner V, Furness RW, Papakonstantinou K. Mercury in Feathers of Audouin's Gull (*Larus audouinii*) Chicks from Northeastern Mediterranean Colonies. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2000;39(2):200-204. doi:10.1007/s002440010097.
242. Sanpera C, Moreno R, Ruiz X, Jover L. Audouin's gull chicks as bioindicators of mercury pollution at different breeding locations in the western Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 2007;54(6):691-696. doi:10.1016/j.marpolbul.2007.01.016.
243. Burger J. Metals in avian feathers: bioindicators of environmental pollution. *Rev Env toxicol.* 1993;5:203-311.
244. Thompson DR, Becker PH, Furness RW, Beckert P-. H. Long-Term Changes in Mercury Concentrations in Herring Gulls *Larus argentatus* and Common Terns *Sterna hirundo* from the German North Sea Coast. *Source J Appl Ecol J Appl Ecol.* 1993;30(30):316-320. <http://www.jstor.org/stable/2404633>. Accessed September 16, 2017.
245. Gochfeld M, Belant JL, Shukla T, Benson T, Burger J. Heavy metals in laughing gulls: Gender, age and tissue differences. *Environ Toxicol Chem.* 1996;15(12):2275-2283.



246. Burger J. Heavy metal and selenium levels in feathers of Franklin's gulls in interior North America. *Auk*. 1996;113(2):399-407. <https://sora.unm.edu/sites/default/files/journals/auk/v113n02/p0399-p0407.pdf>. Accessed June 12, 2017.
247. Stewart FM, Phillips RA, Catry P, Furness RW. Influence of species, age and diet on mercury concentrations in Shetland seabirds. *Mar Ecol Prog Ser*. 1997;151(1-3):237-244. doi:10.3354/meps151237.
248. Lucia M, André JM, Gontier K, Diot N, Veiga J, Davail S. Trace element concentrations (mercury, cadmium, copper, zinc, lead, aluminium, nickel, arsenic, and selenium) in some aquatic birds of the southwest atlantic coast of France. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2010;58(3):844-853. doi:10.1007/s00244-009-9393-9.
249. Mendes P, Eira AC, Torres AJ, Soares AAMVM, Melo AP, Vingada AJ. Toxic Element Concentration in the Atlantic Gannet *Morus bassanus* (Pelecaniformes, Sulidae) in Portugal. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2008;55(3):503-509. doi:10.1007/s00244-008-9134-5.
250. Furness R. Cadmium in birds. In: Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW, eds. *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Vol Boca Raton, FL, USA: CRC Press; 1996:389-404. <https://www.crcpress.com/Environmental-Contaminants-in-Wildlife-Interpreting-Tissue-Concentrations/Meador/p/book/9781566700719>. Accessed July 11, 2017.
251. Scheuhammer a M. Erythrocyte delta-aminolevulinic acid dehydratase in birds. II. The effects of lead exposure in vivo. *Toxicology*. 1987;45(2):165-175. doi:10.1016/0300-483X(87)90101-6.
252. Ribeiro a. R, Eira C, Torres J, et al. Toxic element concentrations in the razorbill alca torda (charadriiformes, alcidae) in Portugal. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2009;56(3):588-595. doi:10.1007/s00244-008-9215-5.
253. Burger J, Gochfeld M. Heavy metal and selenium concentrations in eggs of herring gulls (*Larus argentatus*): Temporal differences from 1989 to 1994. *Arch Environ Contam Toxicol*. 1995;29(2):192-197. doi:10.1007/BF00212970.
254. Doi R, Ohno H, Harada M. Mercury in feathers of wild birds from the mercury - polluted area along the shore of the Shiranui Sea, Japan. *Sci Total Environ*. 1984. doi:10.1016/0048-9697(84)90349-8.
255. Goutner V, Furness RW, Papakonstantinou K. Mercury in feathers of Audouin's gull (*Larus audouinii*) chicks from northeastern Mediterranean colonies. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2000;39(2):200-204. doi:10.1007/s002440010097.
256. Arcos JM, Ruiz X, Bearhop S, Furness RW. Mercury levels in seabirds and their fish prey at the Ebro Delta (NW Mediterranean): The role of trawler discards as a source of contamination. *Mar Ecol Prog Ser*. 2002;232:281-290. doi:10.3354/meps232281.
257. Apanius V. Ontogeny of immune function. In: Starck JM, Ricklefs RE, eds. *Avian Growth and Development: Evolution within the Altricial-Precocial Spectrum*. Vol Oxford: Oxford University Press; 1998:203-222. https://books.google.es/books/about/Avian_Growth_and_Development.html?id=A0HB7Mq4IOYC&redir_esc=y.
258. Pérez López M, Cid Galán F, Hernández Moreno D, et al. Contenido de metales pesados en hígado y plumas de aves marinas afectadas por el accidente del "Prestige" en la costa de Galicia. *Rev Toxicol*. 2005;22:191-199.
259. Burger J, Gochfeld M. Cadmium and lead in common terns (*Aves: Sterna hirundo*): Relationship between levels in parents and eggs. *Environ Monit Assess*. 1991;16(3):253-



258. doi:10.1007/BF00397612.
260. Muirhead S., Furness R. Heavy metal concentrations in the tissues of seabirds from Gough Island, South Atlantic Ocean. *Mar Pollut Bull.* 1988;19(6):278-283. doi:10.1016/0025-326X(88)90599-1.
261. Honda K, Marcovecchio JE, Kan S, Tatsukawa R, Ogi H. Metal concentrations in pelagic seabirds from the North Pacific Ocean. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1990;19(5):704-711. doi:10.1007/BF01183988.
262. Malik RN, Zeb N. Assessment of environmental contamination using feathers of *Bubulcus ibis* L., as a biomonitor of heavy metal pollution, Pakistan. *Ecotoxicology.* 2009;18(5):522-536. doi:10.1007/s10646-009-0310-9.
263. Sanpera C, Moreno R, Ruiz X, Jover L. Audouin's gull chicks as bioindicators of mercury pollution at different breeding locations in the western Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 2007;54(6):691-696. doi:10.1016/j.marpolbul.2007.01.016.
264. B.O.E. nº 37. Orden de 1 de febrero de 1991 por la que se modifica el anexo de la de 7 de septiembre de 1989, sobre prohibición de la comercialización y utilización de ciertos productos fitosanitarios en aplicación de las Directivas 90/335/CEE y 90/533/CEE. 1991:4777.
265. Bechard MJ, Perkins DN, Kaltenecker GS, Alsup S. Mercury contamination in Idaho bald eagles, *Haliaeetus leucocephalus*. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2009. doi:10.1007/s00128-009-9848-8.
266. Lambertini M. Mercury levels in *Larus audouinii* and *Larus argentatus michaelis* breeding in Capraia islands (Tyrrhenian sea). *Riv Ital Orn.* 1982;52:75-79.
267. Wiener JG, Martini RE, Sheffy TB, Glass GE. Factors influencing mercury concentrations in walleyes in northern Wisconsin lakes. *Trans Am Fish Soc.* 1990;119(5):862-870. <https://pubs.er.usgs.gov/publication/1003174>. Accessed September 20, 2017.
268. Muñoz-Vera A, García G, García-Sánchez A. Metal bioaccumulation pattern by *Cotylorhiza tuberculata* (Cnidaria, Scyphozoa) in the Mar Menor coastal lagoon (SE Spain). *Environ Sci Pollut Res.* 2015;22(23):19157-19169. doi:10.1007/s11356-015-5119-x.
269. García-tarrasón M. Trophic ecology, habitat use and ecophysiology of Audouin's Gull (*Larus audouinii*) in the Ebro Delta. *Tesis Dr Univ Barcelona.* 2014. <http://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/63723>.
270. Espín S, Martínez-López E, Gómez-Ramírez P, María-Mojica P, García-Fernández AJ. Razorbills (*Alca torda*) as bioindicators of mercury pollution in the southwestern Mediterranean. *Mar Pollut Bull.* 2012;64(11):2461-2470. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.07.045.
271. Dauwe T, Bervoets L, Pinxten R, Blust R, Eens M. Variation of heavy metals within and among feathers of birds of prey: effects of molt and external contamination. *Environ Pollut.* 2003;124:429-436.
272. Debén S, Ángel Fernández J, Aboal JR, Carballeira A. Evaluation of different contour feather types for biomonitoring lead exposure in Northern goshawk (*Accipiter gentilis*) and tawny owl (*Strix aluco*). *Ecotoxicol Environ Saf.* 2012;85:115-119. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.08.005.
273. Solonen T, Lodenius M. Feathers of birds of prey as indicators of mercury contamination in southern Finland. *Holarct Ecol.* 1990;13(3):229-237. doi:doi:10.1111/j.1600-0587.1990.tb00613.x.
274. Braune BM, Gaskin DE. A mercury budget for the Bonaparte's Gull during autumn moult. *Ornis Scand.* 1987;(18):244-250.



- <http://www.jstor.org/stable/pdf/3676891.pdf?refreqid=excelsior%253A0056867a6f1607fdd6f8e642139aee14>. Accessed June 8, 2017.
275. Burger J. Assessment of metals in down feathers of female common eiders and their eggs from the Aleutians: arsenic, cadmium, chromium, lead, manganese, mercury, and selenium. *Env Monit Assess.* 2008;143(6):247-256. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.08.021.Secreted.
276. Vittorio Pedrocchi Rius. Egg parameters of Audouin's Gull *Larus audouinii*: variability factors and its adaptative value. *Tesis Dr Univ Barcelona.* 1998. https://www.researchgate.net/profile/Vittorio_Pedrocchi/publication/282657693_Egg_parameters_of_Audouin's_Gull_Larus_audouinii_variability_factors_and_its_adaptative_value/links/5616793b08ae73279641f591.pdf. Accessed June 24, 2017.
277. Sanpera C, Morera M, Crespo S, Ruiz X, Jover L. Trace elements in clutches of Yellow-legged Gulls, *Larus cachinnans*, from the Medes Islands, Spain. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1997;59(5):757-762. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9323225>.
278. Sanpera C, Morera M, Ruiz X, Jover L. Variability of mercury and selenium levels in clutches of Audouin's gulls (*Larus audouinii*) breeding at the Chafarinas Islands, Southwest Mediterranean. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2000;39(1):119-123. doi:10.1007/s002440010087.





VI. CONCLUSIONES





V.1. ESTUDIOS PRELIMINARES EN LAS COLONIAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN.

Primera: Los trabajos de anillamiento y toma de muestras en una colonia de reproducción de Gaviota de Audouin, realizados en un tiempo razonable (≤ 70 minutos), no inducen una respuesta de estrés apreciable externamente en los polluelos que se manejan, ni los expone a riesgos térmicos por radiación solar, por lo que se cumple con los parámetros de bienestar animal en experimentación con animales.

Segunda: La capacidad de termorregulación en los pollos expuestos a radiación directa solar, parece ser suficiente para evitar aumentos de temperatura corporal críticos para su supervivencia.

Tercera: Desde el momento de la puesta hasta los 7 días de edad parece ser el periodo más crítico de la reproducción y donde la descendencia es más sensible a la estocasticidad ambiental incluida la presencia de contaminantes. La pérdida de sujetos producida por la mortalidad perinatal debería de ser tenida en cuenta al abordar estudios de biomonitorización ambiental en aves precociales que anidan en colonias.

Cuarta: Es difícil apreciar la asignación de sexos por parte de los progenitores cuando la privación de alimento no es muy importante en colonias de Gaviota de Audouin. No obstante, en los casos de productividades más bajas la disminución del nº de machos, género que necesita mayores cuidados de los parentales, se hace más patente.

V.2. EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A METALES EN POLLOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN DE DOS COLONIAS DE REPRODUCCIÓN DEL SURESTE DE ESPAÑA.

Primera: La población de gaviota de Audouin del Sureste de España se encuentra expuesta a niveles de contaminación por cadmio propios de zonas no contaminadas.

Segunda: Mientras que los niveles de Cd no se han relacionado con efectos adversos, los de Pb, Zn y Cu son superiores a los asociados a alteraciones enzimáticas y de estrés oxidativo en aves. De forma similar, los niveles de Hg podrían suponer un riesgo en la época perinatal.

Tercera: Los mayores niveles de Pb, Cd y Cu en la colonia de Isla Grossa respecto a la de Torre Vieja, podrían estar relacionados con la disminución de su productividad. La proximidad a una zona minera, los emisarios submarinos de aguas residuales o los pecios hundidos en la zona podrían ser las fuentes de contaminación por estos metales.

Cuarta: La colonia de Torre Vieja se caracterizó por una importante exposición a mercurio. Es este metal el único que podría explicar la pérdida de productividad en esta colonia. Su ubicación en la zona donde se acumulan los fangos yesíferos procedentes de la explotación salinera de Torre Vieja podría ser el origen.

Quinta: Los niveles de Zn y Cu encontrados en las gaviotas de Isla Grossa nos alertan de la posibilidad de que los pollos sufrieran cierta privación alimenticia, causa por la que la colonia



pudo cambiar su ubicación. Esta privación alimenticia podría haber aumentado la sensibilidad a otros contaminantes como el cadmio.

Sexta: En ambas colonias estudiadas se observa como los patrones de exposición a Cd, Pb y Cu se encuentran ligados.

Séptima: Las concentraciones de mercurio y zinc suponen un factor limitante de la productividad para esta especie, siendo la exposición a mercurio, “per se”, capaz de generar descensos del éxito reproductor mayores que la actuación sinérgica de otros metales (plomo, cobre y zinc), en aquellas colonias que se ven expuestas a estos contaminantes.

V.3. METALES PESADOS Y COMPUESTOS ORGANOCOLORADOS EN HUEVOS NO ECLOSIONADOS DE GAVIOTA DE AUDOUIN: TENDENCIAS ESPACIO-TEMPORALES Y EVALUACIÓN DEL RIESGO.

V.3.2. ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES EN LA CÁSCARA DE HUEVO.

Primera: Los niveles de contaminación por metales pesados en los huevos de Gaviota de Audouin de nuestro estudio nos hacen inferir una diferenciación en el patrón de exposición a dichos contaminantes entre las poblaciones del Mediterráneo occidental y las del Mediterráneo oriental.

Segunda: A pesar de encontrar concentraciones de plomo en los huevos de nuestro estudio similares a las encontradas en gaviotas de Audouin en lugares contaminados con hidrocarburos de Mediterráneo Occidental, parece corroborarse que la exposición de las madres a este contaminante debería ser muy elevada para que lo reflejen en su puesta.

Tercera: La ausencia de diferencias en el patrón de contaminantes encontrado en los huevos de Isla Grossa e Isla Moltona se debió casi con total seguridad a una misma forma de explotar los recursos tróficos en ambas localidades, siendo en ambos casos subsidiarias de las artes de pesca de cerco de forma más intensa que de los descartes pesqueros. Nuestros datos sugieren una fuente común de exposición para los metales analizados en ambas colonias.

Cuarta: Los parámetros biométricos de los huevos en la Gaviota de Audouin parecen estar afectados por la exposición a Cu y Pb. Así, el tamaño disminuye conforme aumenta la exposición a Cu y el peso de la cáscara lo hace conforme aumenta la exposición a Pb.

V.3.3. ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE ORGANOCOLORADOS EN CONTENIDO DE HUEVOS NO ECLOSIONADOS.

Primera: Las gaviotas de Audouin de Isla Grossa presentaron una exposición extraordinaria a dieldrín y PCBs en comparación con las de Isla Moltona.

Segunda: Las concentraciones de *p,p'*-DDE y HBC encontradas en nuestro estudio indican una disminución paulatina de este contaminante en el Mediterráneo con el paso de los años desde que se considera que cesaron sus vertidos al mar en nuestras costas hace 20 años.



Tercera: Las concentraciones de dieldrín en las muestras de Isla Grossa demuestran un alto grado de exposición a este contaminante a pesar de que en el momento de la recolección de las mismas el uso de este compuesto llevaba prohibido 10 años.

Cuarta: El patrón de exposición a PCBs, como ocurrió con los metales pesados, caracteriza de forma diferenciada las gaviotas del Mediterráneo oriental y del Mediterráneo occidental. Este patrón de exposición a los diferentes congéneres de PCBs en los huevos, está más relacionado con los recursos alimenticios que explota la especie y su posición trófica, que con el área geográfica en la que se encuentra su territorio.

Quinta: La exposición a PCBs parece reafirmar que las ramblas que desembocan en el Mar Menor podrían ser el origen de dicha contaminación al arrastrar contaminantes de zonas limítrofes a la laguna

Sexta: Se podría establecer un patrón de disminución del 50% de la contaminación por PCBs indicadores en el Mediterráneo occidental por cada periodo de diez años.

Séptima: Los niveles de insecticidas organoclorados y PCBs encontrados en nuestro estudio no parecieron influir sobre la productividad de las colonias estudiadas por lo que no podemos considerarlas, en sí mismos, un riesgo para la reproducción. No obstante, concentraciones similares se encontraron en otras colonias del Mediterráneo español con la misma productividad, dicha coincidencia nos hace pensar en la necesidad de profundizar en el estudio de la influencia de estos contaminantes sobre la reproducción de esta especie.

Octava: Se observó adelgazamiento de la cáscara en los huevos que presentaban una concentración superior a 11,8 $\mu\text{g/g}$ de peso lípidos de DDE, por lo que podría considerarse un valor umbral de riesgo para esta especie.

Novena: A diferencia de otros estudios, no se observó presencia de vaterita en la cutícula de las cáscaras de huevo de Isla Grossa, lo que parece ser propio de las aves expuestas a organohalogenados. Esta sustancia no puede ser, por tanto, usada para demostrar la exposición a insecticidas organoclorados o PCBs en la Gaviota de Audouin.

V.4. METALES PESADOS (Cd, Pb, Cu, Zn Y Hg) EN PLUMAS DE GAVIOTA DE AUDOUIN DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL.

Primera: Las diferencias encontradas en cuanto a las concentraciones de metales en plumas de pollos y adultos, parecen ser debidas a diferencias en la dieta de ambos grupos de edad.

Segunda: Los mayores niveles de zinc y mercurio de los pollos en la colonia de Torrevieja frente a los adultos no están en consonancia con lo encontrado en esta especie y en otras aves acuáticas, lo que nos indica un riesgo importante de exposición de mercurio en los pollos de esta colonia. Las concentraciones medias de mercurio encontradas en este estudio en las Salinas de Torrevieja sugieren que nos encontramos en una zona fuertemente contaminada por este metal.



Tercera: La inexistencia de diferencias en las concentraciones de Pb y Cu entre pollos y adultos de las colonias de Isla Grosa y Torrevieja solo puede ser explicada por la existencia de una fuente de contaminación en ambas localidades.

Cuarta: En los pollos, para plomo, cobre, zinc y mercurio se observa una disminución en la exposición conforme nos alejamos de la zona principal de estudio (Isla Grosa y Torrevieja) en dirección norte.

Quinta: Los altos niveles de mercurio encontrados en plumas sugieren que la depleción de mercurio a través de las plumas se presenta como uno de los mecanismos de detoxificación más importantes para la especie. Este podría hacer a los pollos de gaviota de Audouin especialmente resistentes a la acción de este contaminante.

Sexta: La ausencia de relación entre la concentración de mercurio en sangre y en plumas de los pollos en una zona considerada contaminada por este metal podría deberse a la gran variabilidad de la dieta de los pollos durante el periodo de cría. Mientras que la sangre refleja los niveles de una exposición reciente, las plumas reflejan los niveles de metales biodisponibles en sangre durante un dilatado periodo de tiempo, por tanto una información con datos sujetos a una variabilidad menor que las muestras de sangre. Este hecho lo explicamos por la gran variabilidad en la dieta de los pollos durante el periodo de cría. No obstante, es importante elegir adecuadamente la pluma a analizar conociendo el patrón de muda o incluso el grado de desarrollo de esta según las especificaciones espacio-temporales del estudio.

Séptima: A la vista de los datos obtenidos podemos inferir que las plumas son utilizadas como un medio para eliminar contaminantes metálicos más eficiente que las cáscaras de los huevos en las hembras reproductoras.



VII. RESUMEN - ABSTRACT





RESUMEN.

La Gaviota de Audouin (*Ichthyaetus audouinii*) es un ave marina perteneciente a la familia Laridae que se reproduce en las costas del mar Mediterráneo desde Líbano hasta Marruecos, aunque más del 85% de su población (>19.000 pp.) lo hace en España. Esta especie, aunque explota una gran diversidad de recursos tróficos, es principalmente piscívora, dependiendo de una forma importante de la actividad pesquera comercial. Con la finalidad de estudiar la presencia de ciertos contaminantes persistentes (metales pesados, organoclorados y PCBs), y su posible influencia sobre el éxito reproductivo de la especie, entre los años 2000 y 2011 se tomaron muestras biológicas (huevos, plumas y sangre de pollos), en las colonias de Isla Grosa (Murcia), Salinas de Torrevieja (Alicante), Isla Moltona (Islas Baleares) y Delta del Ebro (Tarragona), situadas en el litoral mediterráneo español.

Antes de abordar los estudios toxicológicos, durante los años 2001-2005, se realizaron estudios preliminares en la colonia de Isla Grosa. Se valoró el grado de estrés que los pollos de gaviota podrían sufrir durante su captura y manejo, la mortalidad perinatal en la colonia (la cual podría generar un sesgo de los resultados obtenidos) y la determinación del sexo de los pollos como método indirecto de valorar la disponibilidad de recursos tróficos utilizados por los parentales. No se observó estrés térmico en los pollos debido al manejo, aunque hubo diferencias significativas en las temperaturas corporales de los pollos dependiendo que se encontraran los nidos al sol (T^a media= 33,4°C), sol/sombra (T^a media= 30,8°C), o sombra (T^a media= 27,9°C). Los eventos de mortalidad perinatal se produjeron entre el día de la puesta y los primeros 7 días de vida de los pollos (90% de los casos), coincidiendo con otros autores para la misma especie. Este hecho nos induce a pensar en una subestima de la exposición a contaminantes en Gaviota de Audouin cuando se utilizan pollos de más de 7 días de edad. Tras el estudio de la determinación de sexos de la colonia de Isla Grosa, durante los años 2002, 2003 y 2005, se comprobó que el sex ratio medio de la progenie (relación machos: hembras) fue de 1,63:1, siendo mayor el porcentaje de machos que de hembras para todos los años estudiados (51,7%, 68,2% y 59,1% respectivamente). Al mismo tiempo se pudo observar que, cuando la productividad de la colonia aumenta, la diferencia a favor de los machos se hace más evidente. Esto parece apuntar en el sentido de cierta selección de sexos cuando los factores que afectan a la reproducción (contaminación, disponibilidad de recursos alimenticios, edad de los parentales, etc.) son más favorables, descartando la influencia de otros de naturaleza estocástica.



Para comprobar el grado de exposición de esta especie a la contaminación por metales pesados y si existen riesgos asociados a su exposición, se analizaron los niveles de zinc, cadmio, plomo, cobre y mercurio en 271 muestras de sangre de pollos recogidas entre los años 2002-2011, procedentes de dos colonias de cría cercanas pero situadas en dos hábitats bien distintos, una en un islote de origen volcánico (Isla Grosa) y la otra en los terrenos anexos a una explotación salinera en tierra (Salinas de Torre Vieja). De los cinco metales estudiados, el cadmio fue el menos detectado (48,2%), con una media para el conjunto de las muestras de $0,23 \pm 0,51 \mu\text{g/dl}$. Al igual que el cadmio, los niveles medios del conjunto de la población de plomo ($6,97 \pm 6,13 \mu\text{g/dl}$), mercurio ($35,58 \pm 37,81 \mu\text{g/dl}$) y cobre ($23,79 \pm 28,33 \mu\text{g/dl}$), pueden considerarse dentro del rango establecido para aves no expuestas. Respecto al zinc ($496,61 \pm 236,51 \mu\text{g/dl}$), aunque no alcanzó los niveles descritos para aves intoxicadas, estos están por encima de los que algunos autores consideran propios de aves sanas.

Por otro lado, las concentraciones medianas de plomo y cadmio fueron significativamente mayores en Isla Grosa (Pb = $6,95$ y Cd = $0,15 \mu\text{g/dl}$) que en Torre Vieja (Pb = $2,75 \mu\text{g/dl}$ y Cd = n. d.), situándose incluso por encima de niveles encontrados en otras especies de aves que nidifican en áreas contaminadas por metales pesados. Esta contaminación se atribuyó a diversos factores: la existencia de pecios hundidos en los alrededores de la colonia, la naturaleza del suelo donde se asienta, la contaminación procedente del vertido de aguas residuales urbanas sin depurar en sus proximidades, la contaminación procedente de la explotación minera realizada en la costa cercana, o una combinación de todas ellas. Por el contrario, las concentraciones medianas de mercurio en sangre fueron significativamente superiores en los pollos procedentes de Torre Vieja que de Isla Grosa (Torre Vieja = $28,11 \mu\text{g/dl}$; Isla Grosa = $16,05 \mu\text{g/dl}$; $p < 0,01$), al igual que sucedió con las de zinc (Torre Vieja = $493,20 \mu\text{g/dl}$; Isla Grosa = $414,65 \mu\text{g/dl}$; $p < 0,01$). Los niveles de mercurio encontrados en Torre Vieja son propios de zonas contaminadas por este metal y están relacionados directamente con la dieta que consumen los pollos desde su eclosión. El uso por parte de los progenitores de recursos alimenticios procedentes de granjas de maricultura o de las propias salinas anexas a la colonia de Torre Vieja, se barajó como posible fuente de la contaminación. Respecto al zinc, diversos factores como una fuente de contaminación puntual, el mejor estado nutricional de los pollos de Torre Vieja o compartir ruta metabólica con el mercurio, fueron considerados como posibles causas de las diferencias entre colonias. Excepto para el zinc, en Isla Grosa no se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras. Las concentraciones de zinc, mayores en hembras, se debieron presumiblemente a la mayor sensibilidad de los machos a la privación alimentaria. Este metal se asoció de forma importante con la pérdida de



productividad en ambas colonias, aunque el metal que mayor influencia tuvo en dicha disminución fue el mercurio, el cual se posiciona como uno de los contaminantes que más influencia puede tener sobre el éxito reproductivo de la especie.

Existe una relación de los contaminantes ambientales con fenómenos de mortalidad perinatal, disminución de la productividad, alteraciones en el comportamiento, disminución del grosor de la cáscara del huevo, etc., que influyen sobre el éxito reproductivo de una especie. Con la finalidad de profundizar en el conocimiento de los posibles efectos de los contaminantes sobre el éxito reproductivo de esta especie, se realizó un estudio de un total de 30 huevos no eclosionados recogidos en Isla Grosa e Isla Moltona. Se encontraron diferencias significativas entre el peso de la cáscara de ambas localidades (Isla Grosa = 3,96 g; Isla Moltona = 3,60 g) que podrían ser atribuidas a una diferente estructura o composición química de las cáscaras. El volumen de los huevos de Isla Grosa no avaló la teoría de la privación alimentaria durante los años 2000, 2001 y 2003. Se analizó la presencia de cadmio, plomo, cobre y zinc en las cáscaras de los huevos comprobando que era el zinc el que se encontraba en mayor concentración ($6,66 \pm 3,83 \mu\text{g/g}$), seguido del cobre ($1,13 \pm 0,50 \mu\text{g/g}$), plomo ($0,15 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$) y cadmio ($0,002 \pm 0,002 \mu\text{g/g}$). Las concentraciones de plomo y cadmio fueron superiores a las encontradas para la misma especie por otros autores en el Mediterráneo Occidental pero inferiores a las del Mediterráneo Oriental. A pesar de la distancia entre ambas colonias (199 millas náuticas), no se encontraron diferencias en las concentraciones de los metales analizados, lo que nos indica un mismo patrón de exposición de las madres previo a la puesta, posiblemente relacionado con su bioacumulación en los cuarteles de invierno. Este hecho fue avalado por la correlación estadísticamente significativa encontrada entre todos los metales analizados. Solo las concentraciones de zinc fueron significativamente mayores en huevos embrionados que no embrionados ($10,37 \pm 4,39$ y $6,25 \pm 4,32 \mu\text{g/g}$, respectivamente). Al igual que se ha comprobado en otras especies, en Isla Grosa se encontró una correlación negativa estadísticamente significativa entre el cobre y el tamaño de los huevos, lo cual está asociado al estado nutricional de la madre en la época de prepuesta. También se demostró una relación inversa entre la concentración de plomo y el peso de la cáscara, lo que atribuimos a la competencia entre calcio y plomo al compartir las mismas rutas metabólicas. Este hecho no ha sido observado en otras especies de aves. Finalmente, una fuerte correlación negativa entre la concentración de cobre y el grosor de la cáscara del huevo se encontró en Isla Moltona pero no en Isla Grosa.

Mediante el estudio de OC y PCBs en el contenido de los huevos se detectó la presencia de DDE ($7579,99 \pm 4771,57 \text{ ng/g}$), HCB ($71,02 \pm 32,80 \text{ ng/g}$), dieldrin ($363,48 \pm 198,04 \text{ ng/g}$), y PCBs ($21248,41 \pm 9579,17 \text{ ng/g}$). No se observaron diferencias estadísticamente



significativas entre las concentraciones de organohalogenados de Isla Grosa e Isla Moltona excepto para dieldrín ($448,54 \pm 176,26$ vs $165,01 \pm 34,73$ ng/g) y Σ PCBs (23720 ± 10052 vs 14587 ± 3739 ng/g), respectivamente. Las concentraciones de DDE encontradas indican que la Gaviota de Audouin se encuentra expuesta a niveles anormalmente altos de este compuesto. Este mismo hecho sucede con el dieldrin, el cual no ha sido detectado en otros estudios sobre esta especie. Respecto a los PCBs, el congénere detectado en mayor concentración fue el PCB 153, seguido del PCB 180 y del PCB 138, en consonancia con lo encontrado por otros autores en Gaviota de Audouin. Se encontraron diferencias entre ambas colonias para un total de 13 congéneres de los 21 detectados. Las concentraciones en Isla Grosa fueron del orden de 10 veces superiores a las de otras especies de aves de la Región de Murcia. A la vista de los resultados obtenidos, se pudo establecer un patrón de disminución de los PCBs “indicadores” del 50% en el Mediterráneo Occidental por cada periodo de 10 años. Por otro lado, se comprobó que el mapa de exposición a PCBs podría estar más relacionado con los recursos alimenticios que explota la especie y su posición trófica que con el área geográfica en la que se encuentra su territorio. Solo seis de los congéneres de PCBs “tipo dioxina” fueron detectados en los huevos estudiados y sus concentraciones fueron superiores en Isla Grosa que en Isla Moltona ($97,92 \pm 39,68$ vs $66,94 \pm 20,56$ pg/g peso lípidos). Se valoró la influencia de estos compuestos sobre el éxito reproductivo de las gaviotas de Isla Grosa, no encontrando una influencia negativa de estos compuestos sobre la productividad. No obstante, si se observó una correlación negativa estadísticamente significativa, entre la concentración de DDE y el grosor de la cáscara del huevo, en los huevos cuya concentración de DDE superaba los $11,80$ μ g/g en peso de lípidos. A pesar de esto, no se observaron alteraciones ultraestructurales en los huevos estudiados. Dadas las fuertes correlaciones detectadas entre casi todos los compuestos, el estudio de los efectos sinérgicos sobre la reproducción debería ser abordado en trabajos posteriores ya que la baja productividad de algunos años en la colonia de Isla Grosa (2000 y 2001) puede ser sustentada por dicha sinergia.

Las plumas pueden ser consideradas una alternativa a la recolección de tejidos internos, pudiéndose obtener en animales vivos, respetando de esta forma la integridad del individuo y sin provocar daños a la población. La concentración de metales en plumas es proporcional a la de los tejidos internos, ya que, durante la formación de las mismas, los metales se movilizan llegando a ellas a través de la sangre. También nos muestran el grado de exposición reciente a contaminantes de origen alimentario ya que el aumento postapandrial de la concentración en sangre es seguida de una deposición en la pluma en formación. Por tanto, la concentración de metales en plumas nos aporta información



sobre la concentración a nivel sanguíneo durante el tiempo que dura la muda en adultos o el emplume de los pollos. En la presente memoria, se estudiaron las concentraciones de cadmio, plomo, cobre y zinc en plumas primarias de adultos, encontrados muertos en diferentes colonias de cría (Isla Grosa, Delta del Ebro y Torrevieja) y plumas interescapulares de pollos vivos de las mismas colonias. Tras estudiar los resultados obtenidos en los análisis por grupos de edad (pollos y adultos) de cada colonia, comprobamos que la mayor concentración para el cadmio lo presentaban las gaviotas adultas y los pollos del Delta del Ebro ($Cd_{\text{adultos}}=19,69 \mu\text{g/kg}$ y $Cd_{\text{pollos}}=8,77 \mu\text{g/kg}$); para el plomo los adultos de Torrevieja ($Pb_{\text{adultos}}=1,05 \text{ mg/kg}$) y los pollos de Isla Grosa ($Pb_{\text{pollos}}=0,94 \text{ mg/kg}$); para el cobre los adultos del Delta del Ebro ($Cu_{\text{adultos}}=9,70 \text{ mg/kg}$) y los pollos de Isla Grosa ($Cu_{\text{pollos}}=10,57 \text{ mg/kg}$); para el zinc los adultos y los pollos de Isla Grosa ($Zn_{\text{adultos}}=82,19 \text{ mg/kg}$ vs $Zn_{\text{pollos}}=127,56 \text{ mg/kg}$) y para el mercurio los adultos de Isla Grosa ($Hg_{\text{adultos}}=5,30 \text{ mg/kg}$) y los pollos de Torrevieja ($Hg_{\text{pollos}}=8,21 \text{ mg/kg}$). Se observaron diferentes comportamientos respecto de las concentraciones de metales en cada una de las colonias. Así, no se observaron diferencias entre las plumas de adultos y pollos en Isla Grosa, no ocurriendo lo mismo en las otras dos localidades. Se observó que en la colonia de Torrevieja los niveles fueron significativamente superiores en pollos que en adultos, tanto de zinc ($Zn_{\text{pollos}}=47,45$ vs $Zn_{\text{adultos}}=23,02 \text{ mg/kg}$) como de mercurio ($Hg_{\text{pollos}}=8,21$ vs $Hg_{\text{adultos}}=4,19 \text{ mg/kg}$). Sin embargo, en Delta del Ebro los niveles fueron significativamente superiores en adultos que en pollos respecto al plomo ($Pb_{\text{pollos}}=0,28$ vs $Pb_{\text{adultos}}=0,58 \text{ mg/kg}$), cobre ($Cu_{\text{pollos}}=3,46$ vs $Cu_{\text{adultos}}=9,70 \text{ mg/kg}$) y zinc ($Zn_{\text{pollos}}=33,46$ vs $Zn_{\text{adultos}}=56,40 \text{ mg/kg}$). En nuestro estudio, solamente los pollos de Torrevieja presentaron mayor concentración de Zn y Hg que los adultos. En el resto de colonias, o no se han encontrado diferencias (caso de Isla Grosa) o estas diferencias señalan mayores concentraciones en los adultos. Estas diferencias, entre adultos y pollos, parecen indicar una diferente exposición durante el periodo que abarca desde el nacimiento de los pollos (finales de mayo) a la muda otoñal de los adultos previa a la migración invernal (septiembre-octubre). Las mayores concentraciones de plomo, zinc y cobre en los pollos de la colonia de Isla Grosa sugieren una mayor exposición a plomo y zinc en la zona y una peor condición física de los pollos. No se encontraron diferencias en las concentraciones de mercurio entre los pollos de Isla Grosa y Torrevieja, a pesar de que dichas concentraciones fueron superiores en esta última. Los resultados obtenidos para ambas colonias nos permiten afirmar que los fondos marinos de la zona principal de nuestro estudio (Isla Grosa y Torrevieja), se encuentran más contaminadas por este metal que los del Delta del Ebro. La diferencia en el patrón de contaminantes hallados en sangre de pollos y sus plumas nos hace pensar que la pluma nos aporta una información con datos sujetos a una variabilidad menor que la sangre, por reflejar los niveles ambientales en un



dilatado periodo de tiempo. Solo se observaron diferencias en las concentraciones de zinc y cobre entre las plumas de los adultos de las diferentes colonias, siendo las más elevadas las de Isla Grosa para el zinc y las de Delta del Ebro para el cobre, aunque, por tratarse de dos oligoelementos, su variabilidad no implica necesariamente la presencia de una fuente de contaminación, como ya se ha comentado con anterioridad. A la vista de los resultados anteriores, pudimos comprobar como Pb, Cu y Zn presentaban diferencias en cuanto a sus concentraciones en pollos de las diferentes colonias. Lo mismo sucedía con Cu y Zn en los adultos. Se estudió si dichas diferencias eran debidas a parámetros geográficos (localización de la colonia) o a la edad de los animales. De esta forma pudimos comprobar que, tanto para el Zn como para el Cu, es la interacción entre la “localidad” (colonia) y la “edad” la que mejor explica la exposición a estos metales, corroborando de esta manera como ambos metales se comportan de forma diferente en cada grupo de edad dependiendo de la localización de la colonia. Para el Pb se observa que el predictor “colonia y edad” es el que nos determina con mayor exactitud la exposición a este metal.

Para estudiar la utilidad de la pluma para el estudio de la exposición a metales pesados durante el periodo de cría de una especie, como la Gaviota de Audouin, cuyos hábitos alimenticios son tan diversos, se seleccionaron 25 pollos de la colonia de Torrevieja, en los que se había analizado tanto la sangre como sus plumas. Se observó que no existía ninguna relación entre las concentraciones de mercurio en las plumas de los pollos y sus niveles en sangre, a diferencia de lo encontrado para la misma especie en otras colonias del Mediterráneo Occidental. Este hecho puede ser debido, por un lado, a la gran variedad de presas que conforman la dieta de la Gaviota de Audouin, y por otro, a que la pluma nos aporta una información de datos sujetos a una variabilidad menor que la sangre, como ya se ha comentado con anterioridad.

Por otro lado, se consideró interesante investigar la importancia de la puesta y la muda como vías de excreción de metales en las hembras reproductoras de esta especie. Para ello, seleccionamos muestras de plumas de adultos y cascaras de huevo procedentes de Isla Grosa entre los años 2000 a 2004 comprobando que las concentraciones medias de cadmio ($14,03 \pm 11,20$ vs $2,56 \pm 2,19$ $\mu\text{g}/\text{kg}$), plomo ($0,80 \pm 0,55$ vs $0,16 \pm 0,06$ $\mu\text{g}/\text{kg}$), cobre ($8,70 \pm 3,66$ vs $1,16 \pm 0,55$ $\mu\text{g}/\text{kg}$) y zinc ($82,19 \pm 53,23$ vs $6,19 \pm 4,05$ $\mu\text{g}/\text{kg}$), fueron siempre significativamente mayores, en plumas de los adultos que en cáscaras de huevo. A la vista de los datos podemos inferir que las plumas son utilizadas como un medio más eficiente para eliminar contaminantes metálicos que las cáscaras de los huevos. Excepto para el metal plomo, el cual muestra una relación cáscara:pluma 1:4, el resto de metales demostraron una baja excreción a través de las cáscaras en relación con las plumas. Así, cadmio y cobre mostraron una relación aproximada de 1:7 entre ambos tejidos. El zinc



fue el que más alejado se mostró en las concentraciones entre ambos tipos de muestras (1:13), ya que este metal se acumula más en el contenido del huevo que en su cáscara.

En conclusión, este estudio intenta profundizar en el conocimiento sobre algunos de los principales contaminantes que pueden afectar al éxito reproductivo de la Gaviota de Audouin, cuyos efectivos poblacionales se limitan al Mar Mediterráneo, un mar en el que la contaminación mantiene un importante grado de amenaza sobre la especie. Futuros estudios tendentes a conocer los efectos de la acción sinérgica de estos compuestos sobre la especie nos permitirá elaborar mapas de idoneidad de hábitat para la Gaviota de Audouin, como una importante herramienta de gestión de cara a su conservación. Por otro lado, profundizar en el estudio de las fuentes de contaminación a las que se ve expuesta una especie que comparte con el ser humano recursos alimenticios que forman parte de su dieta habitual, resulta de tremenda utilidad de cara a la protección de la salud pública.



**ABSTRACT.**

Audouin's gull (*Ichthyaetus audouinii*) is a seabird belonging to the Laridae family that breeds on the shores of the Mediterranean Sea from Lebanon to Morocco, with more than 85% of its population (> 19,000 pp.) in Spain. This species, although feeding on a great diversity of trophic resources, is mainly piscivorous, highly dependent on the commercial fishing activity. In order to study the presence of certain persistent contaminants (heavy metals, organochlorine and PCBs), and their possible influence on the species breeding success, biological samples were taken (eggs, feathers and nestlings blood), between the years 2000 and 2011 in the colonies of Isla Grosa Island (Murcia), Torrevieja saltworks (Alicante), Moltona Island (Balearic Islands) and Ebro Delta (Tarragona), located in the Spanish Mediterranean coast.

Prior to approaching toxicological studies, during the years 2001-2005, preliminary studies were conducted in the colony of Grosa Island. The degree of stress that seagull chicks could suffer during their capture and management, the perinatal mortality in the colony (which could generate a bias of the obtained results) and the nestlings sex determination as an indirect method to value the availability of trophic resources to which parental access, were available. No thermal stress was observed in the chicks due to handling, although there were significant differences in the body temperatures of the nestlings depending on the nests exposure to the sun (mean temperature = 33.4 °C), Sun/shade (mean temperature = 30.8 °C), or shade (mean temperature = 27.9 °C). The perinatal mortality events occurred between the day of the laying and the first 7 days of the chicks life (90% of the cases), coinciding with other authors for the same species. This fact suggests that we can underestimate the exposure to pollutants in Audouin's gull when chicks older than 7 days are studied. After the study of the sex determination in Grosa Island colony, during the years 2002, 2003 and 2005, it was found that the average sex ratio of the progeny (male: females relationship) was 1.63:1, being greater the percentage of males than females for all the years of the study (51.7%, 68.2% and 59.1% respectively). At the same time, it was observed that, when the productivity of the colony increases, the difference in favor of males becomes more evident. This seems to point in the sense of a certain selection of sexes when factors affecting reproduction (contamination, availability of food resources, parental age, etc.) are more favourable, discarding the influence of other causes of stochastic nature.

To check the degree of exposure of this species to heavy metals contamination and the toxic risks associated, the levels of zinc, cadmium, lead, copper and mercury were analysed in 271 nestlings blood samples collected between the years 2002-2011, coming



from two nearby breeding colonies, located in two distinct habitats, one on an islet of volcanic origin (Grosa Island) and the other on the grounds close to saltworks on the coast (Torrevieja Saltworks). Of the five metals studied, cadmium was the least detected (48.2%), with a mean for all the samples studied of 0.23 ± 0.51 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Like cadmium, average lead levels (6.97 ± 6.13 $\mu\text{g}/\text{dl}$), mercury (35.58 ± 37.81 $\mu\text{g}/\text{dl}$), copper (23.79 ± 28.33 $\mu\text{g}/\text{dl}$), may be considered within the range set for unexposed birds. Zinc (496.61 ± 236.51 $\mu\text{g}/\text{dl}$), although it did not reach the levels described for intoxicated birds, these are above the levels considered typical of healthy birds.

On the other hand, the median concentrations of lead and cadmium were significantly higher in Grosa Island (Pb = 6.95 and Cd = 0.15 $\mu\text{g}/\text{dl}$) than in Torrevieja (Pb = 2.75 $\mu\text{g}/\text{dl}$ and Cd = n.d.), even above levels found in other birds species that nest in areas contaminated with heavy metals. This pollution was attributed to several factors: the existence of shipwrecks sunk near the colony, the soil nature where it inhabits, the pollution from the dumping of urban wastewater without treatment in its vicinity, the pollution from the mining carried out on the nearby coast, or a combination of all of them. Conversely, median concentrations of mercury in blood were significantly higher in chicks from Torrevieja than Grosa Island (Torrevieja = 28.11 $\mu\text{g}/\text{dl}$; Grosa Island = 16.05 $\mu\text{g}/\text{dl}$; $p < 0.01$), as well as zinc (Torrevieja = 493.20 $\mu\text{g}/\text{dl}$; Grosa Island = 414.65 $\mu\text{g}/\text{dl}$; $p < 0.01$). The levels of mercury found are typical of areas contaminated by this metal and are directly related to the diet consumed by chicks since hatching. The use of food resources from mariculture farms or from the annexed saltworks to the colony of Torrevieja, was considered as possible contamination source. Regarding zinc, various factors such as a local source of contamination, the best nutritional status of chicks in Torrevieja or sharing metabolic route with mercury, were considered as possible causes of differences between colonies. Except for zinc, in Grosa Island, no significant differences were found in the metal concentrations between males and females. The concentrations of zinc, higher in females, were presumably due to the greater sensitivity of males to food deprivation. This metal was highly associated with the loss of productivity in both colonies. However, mercury, which is considered one of the main metals that can alter breeding success, showed the highest influence on the productivity decrease.

Exposure to environmental pollutants has been related to perinatal mortality, decreased productivity, behavioural disturbances, decreased eggshell thickness, etc., which influence the species reproductive success. In order to deepen the knowledge of how contaminants can affect the breeding success of this species, a total of 30 unhatched eggs were studied in Grosa Island and Moltona Island. Significant differences were found between the weight of the shell of both localities (Grosa Island = 3.96 g; Moltona Island =



3.60 g), which could be attributed to a different structure or chemical composition of the shells. The volume of Grosa Island eggs did not endorse the theory of food deprivation during the years 2000, 2001 and 2003. The presence of cadmium, lead, copper and zinc was analysed in the shells of the eggs, finding that zinc was found in the highest concentration ($6.66 \pm 3.83 \mu\text{g/g}$), followed by copper ($1.13 \pm 0.50 \mu\text{g/g}$), lead ($0.15 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$) and cadmium ($0.002 \pm 0.002 \mu\text{g/g}$). The lead and cadmium concentrations were higher than those found for the same species by other authors in the western Mediterranean, but lower than those of the eastern Mediterranean. Despite the distance between the two colonies (199 nautical miles), no differences were found in the concentrations of the analysed metals, which indicates the same pattern of exposure of the mothers prior to the laying, possibly related to their bioaccumulation in the winter quarters. This fact was endorsed by the statistically significant correlation found among all the metals analysed. Only zinc concentrations were significantly higher in embryonated than in non embryonated eggs (10.37 ± 4.39 and $6.25 \pm 4.32 \mu\text{g/g}$, respectively). As found in other species, a statistically significant negative correlation between the copper and the size of the eggs was found in Grosa Island, which is associated with the nutritional status of the mother at the pre-laying time. Also, an inverse relationship was shown between the concentration of lead and the weight of the shell, which we attributed to the competition between calcium and lead by sharing the same metabolic pathways. This fact has not been observed in other species of birds. In Moltona Island but not in Grosa Island there was a strong negative correlation between the copper concentration and the thickness of the egg shell.

By studying OC and PCBs in the eggs contents, the presence of DDE ($7579,99 \pm 4771,57 \text{ ng/g}$), HCB ($71,02 \pm 32,80 \text{ ng/g}$), dieldrin ($363,48 \pm 198,04 \text{ ng/g}$), PCBs ($21248,41 \pm 9579,17 \text{ ng/g}$) was detected. No statistically significant differences were observed in the concentrations of organohalogenated compounds between Grosa Island and Moltona Island, except for dieldrin ($448,54 \pm 176,26$ vs $165,01 \pm 34,73 \text{ ng/g}$) and Σ PCBs (23720 ± 10052 vs. $14587 \pm 3739 \text{ ng/g}$) respectively. DDE and dieldrin found in our study indicate that Audouin's gull is exposed to abnormally high levels of these compounds. In addition, dieldrin has not been detected in other studies for this species. Regarding PCBs, the congener detected in highest concentration was the PCB 153, followed by PCB 180 and PCB 138, in accordance with the finding of other authors for this species. Significant differences were found between the two colonies for a total of 13 congeners of the 21 detected. The concentrations in Grosa Island were 10 times higher than in other species of birds in the Murcia region. In view of the results, it was possible to establish a pattern of reduction of "target" PCBs of 50% for each period of 10 years in the western



Mediterranean. On the other hand, it was found that the map of exposure to PCBs could be more related to the food resources used by the species and its trophic position, than with the geographical location of its territory. Only six of the "dioxin-like" PCBs congeners were detected in the studied eggs, and their concentrations were higher in Grosa Island than in Moltona Island ($97,92 \pm 39,68$ vs $66,94 \pm 20,56$ $\mu\text{g/g}$ lipids weight). The influence of these compounds on the breeding success of the gulls of Grosa Island was assessed, not finding a negative influence of these compounds, to the detected concentrations, on the productivity. However, a statistical significant negative correlation was observed between DDE concentration and eggshell thickness, in eggs with more than $11,80$ $\mu\text{g/g}$ lipids weight of DDE. In spite of this, no ultrastructural alterations were observed. Given the strong correlations between almost all the compounds investigated, the study of the synergistic effects on reproduction should be addressed in future studies, since the low productivity of some years in Grosa Island colony (2000 and 2002) can be supported by such synergy.

Feathers can be considered an alternative to the collection of internal tissues, being able to be obtained in alive animals, respecting in this way the integrity of the individual and without causing damage to the population. The concentration of metals in feathers is proportional to internal tissues, since during its formation, the metals are mobilized reaching them through the blood. They also show us the degree of recent exposure to contaminants of food origin since the postapandrial increase of the concentration in blood, is followed by a deposition in the growing feather. Therefore, the feather metal concentrations give us information about the concentration in blood level during the the moulting period in adults or the chicks feather growth. In the present report, concentrations of cadmium, lead copper and zinc were studied in primary feathers of adults, found dead in different breeding colonies (Grosa Island, Ebro Delta and Torrevieja) and interscapular feathers of living chicks of the same colonies. After comparison between age groups (chicks and adults) of each colony, we found that the highest concentration for cadmium was found in adult and chick gulls from Ebro Delta ($\text{Cd}_{\text{adults}} = 19,69$ $\mu\text{g/kg}$ y $\text{Cd}_{\text{chicks}} = 8,77$ $\mu\text{g/kg}$); for lead, in adults from Torrevieja ($\text{Pb}_{\text{adults}} = 1,05$ mg/kg) and chicks from Grosa Island ($\text{Pb}_{\text{chicks}} = 0,94$ mg/kg); for copper, in adults from Ebro Delta ($\text{Cu}_{\text{adults}} = 9,70$ mg/kg) and Grosa Island chicks ($\text{Cu}_{\text{chicks}} = 10,57$ mg/kg); for zinc, in adults and chicks from Grosa Island ($\text{Zn}_{\text{adults}} = 82,19$ mg/kg vs $\text{Zn}_{\text{chicks}} = 127,56$ mg/kg); and for mercury, in Grosa Island adults ($\text{Hg}_{\text{adults}} = 5,30$ mg/kg) and Torrevieja chicks ($\text{Hg}_{\text{chicks}} = 8,21$ mg/kg). Different behaviors were observed regarding the concentrations of metals in each colony. Thus, no differences were observed between the feathers of adults and chicks in Grosa Island, on the contrary to the other two locations. It



was observed that in the Torre Vieja colony, the levels were significantly higher in chicks than in adults, both zinc ($Zn_{\text{chicks}} = 47.45$ vs $Zn_{\text{adults}} = 23.02$ mg/kg) and mercury ($Hg_{\text{chicks}} = 8.21$ vs $Hg_{\text{adults}} = 4.19$ mg/kg). However, in Ebro Delta the levels were significantly higher in adults than in chicks in regard to lead ($Pb_{\text{chicks}} = 0.28$ vs $Pb_{\text{adults}} = 0.58$ mg/kg), copper ($Cu_{\text{chicks}} = 3.46$ vs $Cu_{\text{adults}} = 9.70$ mg/kg) and zinc ($Zn_{\text{chicks}} = 33.46$ vs $Zn_{\text{adults}} = 56.40$ mg/kg). In our study, only the chicks from Torre Vieja showed higher concentrations of Zn and Hg than the adults. In the rest of the colonies, no differences were found (in the case of Grosa Island) or these differences indicate higher concentrations in adults. These differences, between adults and chicks, seem to indicate a different exposure pattern during the period ranging from the birth (end of May) to the autumn moulting period of the adults, prior to the winter migration (September-October). The highest concentrations of lead, zinc and copper in the chicks from the Grosa Island colony, lead us to think of a greater exposure of lead and zinc in the area and a worse physical condition of the chicks. No differences were found in the concentrations of mercury between the chicks from Grosa Island and Torre Vieja, although these concentrations were higher in the latter. The results obtained for both colonies allow us to affirm that the seabeds of the main area of our study (Grosa Island and Torre Vieja), are more polluted by this metal than those of the Ebro Delta. Due to the different pattern of contaminants found in chick blood and feathers, we can consider that the information given by feather is less variable than the given by blood, by reflecting exposure to environmental levels in a longer period of time. Differences were only observed for the concentrations of zinc and copper in adult feather between the different colonies, being the highest from Grosa Island for zinc and Ebro Delta for copper. Because both are trace elements, their variability does not necessarily imply the presence of a source of contamination as previously mentioned. In view of the previous results, Pb, Cu and Zn showed differences in their concentrations in chicks from different colonies. The same thing happened with Cu and Zn in adults. It was studied whether these differences were due to geographical parameters (colony location) or the animals age. In this way we could see that, for both Zn and Cu, it is the interaction between the "locality" (colony) and the "age" the best explanations for the exposure to these metals, thus corroborating how both metals behave in a different way in each group of age depending on the location of the colony. For Pb the predictor "colony and age" determines more precisely the exposure.

To study the usefulness of the feather for the study of heavy metals exposure during the breeding period of a species such as the Audouin's gull, with such diverse feeding habits, 25 chicks were selected from the Torre Vieja colony. Both the mercury in blood and feathers were analysed, proving that there was no relation, contrary to other studies in



the same species in other colonies of the Western Mediterranean. This fact may be due to, on the one hand, the great variety of prey that make up the diet of the Audouin's gull, and on the other the less variable information given by the feather, as previously mentioned.

Finally, the importance of breeding and moulting as routes of excretion of metals in the reproductive females of this species was studied. For this, adult feathers and eggshells collected from Grosa Island between the years 2000 to 2004 were analysed. Metal concentrations were always significantly higher in adult feathers than in egg shells: cadmium (14.03 ± 11.20 vs 2.56 ± 2.19 $\mu\text{g}/\text{kg}$), lead (0.80 ± 0.55 vs 0.16 ± 0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$), copper (8.70 ± 3.66 vs 1.16 ± 0.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and zinc ($82,19 \pm 53,23$ vs 6.19 ± 4.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$). In view of the data, we can infer that the feathers are used as a more efficient way to eliminate metallic contaminants, than the shells of the eggs. Except for lead, which shows a relation shell: feather 1:4, the other metals showed a low excretion through the shell in relation to the feather. Thus, cadmium and copper showed an approximate relationship of 1:7 between both tissues. Zinc showed the highest ratio (1:13) since this metal is accumulated more in the egg content than in the eggshell.

In conclusion, this study tries to deepen the knowledge about some of the main pollutants that can affect the breeding success of the Audouin's gull, whose entire population are limited to the Mediterranean Sea, which pollution poses an important threat to the species. Future studies aimed at knowing the effects that the synergistic action of these compounds have on the species will allow us to develop habitat suitability maps for the Audouin's Gull, as an important management tool for its conservation. On the other hand, deepening the study of the sources of pollution for a species that shares foods resources with the human beings, is very useful in terms of protection of public health.