



CONAMA10
CONGRESO NACIONAL
DEL MEDIO AMBIENTE

COMUNICACIÓN TÉCNICA

Evaluación de la exposición a metales pesados en aulillos de la Comunidad de Madrid y sus posibles efectos inmunodepresores

Autor: Maria José Guillén Nicolás

Institución: Universidad de Murcia

e-mail: motas@um.es

Otros Autores: Silvia Jerez Rodriguez (Toxicología UM); Gonzalo Navarro García (Toxicología UM); Cristina BallesterosTercero (BRINZAL); Miguel Motas Guzmán (Toxicología UM)

RESUMEN

La comunidad de Madrid es una de las comunidades autónomas con mayor número de habitantes y como consecuencia de ello se emiten gran cantidad de contaminantes debido al intenso tráfico de la zona, residuos urbanos y actividades industriales, los cuales pueden pasar a la red trófica incorporándose a distintos niveles de la cadena alimentaria siendo así un peligro tanto para la fauna como para los seres humanos. Las aves rapaces son útiles para su uso como biomonitores de la exposición a los contaminantes presentes en el medio terrestre, debido a su posición en la cadena alimentaria. En el presente estudio se han analizado las concentraciones de metales pesados: plomo, zinc, cadmio y cromo, en sangre y pluma de la especie *Otus scops* en la comunidad de Madrid. Para la realización de este estudio se ha trabajado con individuos volantes y jóvenes, sanos y enfermos afectados por herpesvirus y *Synhimantus (dyspharynx)* sp. encontrados en distintas zonas de la Comunidad de Madrid. Las muestras han sido sometidas a digestión húmeda asistida por microondas para un posterior análisis mediante espectrometría de masas (ICP-MS). Los resultados obtenidos en este estudio han sido comparados con los resultados de otros autores en otras zonas geográficas. Se ha podido confirmar la presencia de contaminación por plomo en la comunidad de Madrid, a través de comparaciones con distintas zonas de estudio. Con los resultados obtenidos, podemos afirmar que no existe relación entre la presencia de metales y la presencia de herpesvirus y *Syngamus* como consecuencia de posibles efectos inmunodepresores.

Palabras Clave: Autillos, Madrid, metales pesados, plumas, sangre, Herpesvirus, *Syngamus*

1. Introducción

En los últimos años el mundo ha presenciado una revolución industrial que ha mejorado las condiciones socioeconómicas pero también ha amenazado el ecosistema natural por la presencia de diversos contaminantes y metales en cantidades importantes en el medio ambiente.

Los metales se encuentran en el medio ambiente en todo el mundo ya sea por aparición natural o como resultado de actividades antropogénicas. Incluso en zonas relativamente libres de la intervención humana, existe la presencia de metales y contaminantes debido a la dispersión global de los contaminantes por aire y agua.

Los contaminantes son cada vez más considerados como factores importantes que influyen en casi cualquier aspecto de la ecología y comportamiento de los animales, especialmente sobre el estado de salud y la supervivencia, la dinámica de población y el estado de conservación de la fauna silvestre a escala mundial.

Para obtener información sobre los niveles de contaminación presentes en el medio, es necesario utilizar parámetros biológicos para monitorizar los contaminantes.

Las aves rapaces son de gran utilidad como biomonitores de la contaminación ambiental debido a su posición en la cima de la cadena alimentaria y su capacidad de acumular altos niveles de metales. En este caso el animal objeto de estudio es *Otus scops* (Autillo Europeo) que pertenece a la clase aves, orden Strigiformes y familia Strigidae. Se trata del más pequeño entre los búhos y mochuelos que se pueden observar en España. (Jutglar y Maso 1999). Su tamaño oscila entre los 18 a 20 cm, y su peso aproximado es de unos 90 a 130 gramos (Jutglar y Maso 1999). Su alimentación se basa preferentemente en insectos, aunque ocasionalmente captura pajarillos, anfibios y reptiles.

El uso potencial de las aves como monitores de medio ambiente de la contaminación ha sido reconocido desde 1960, como resultado de la creciente evidencia de que las poblaciones de aves son particularmente sensibles a la influencia de los efectos de los humanos sobre el medio ambiente (Denneman y Douben, 1993). Las aves rapaces están entre las especies más utilizadas en los estudios de control biológico debido a su posición en la cima de la cadena alimentaria y a la distribución espacial (Altemeyer *et al.*, 1991; Esselink *et al.*, 1995). Sin embargo, ya que las aves de presa están protegidas en muchos casos, hay una necesidad de utilizar técnicas no invasivas (Hahn *et al.*, 1993).

El uso de plumas tiene varias ventajas sobre otros tejidos para la medición de la contaminación por metales en aves. Las plumas son fáciles de recoger y almacenar, ya que no necesitan refrigeración (Furness *et al.*, 1986; Burger, 1996). Las plumas se pueden recoger en vivo siendo particularmente apropiadas para especies en declive. En general, las muestras de aves vivas son indicadores más precisos que los obtenidos de aves muertas, ya que las aves muertas pueden no ser representativas de la población que vive con respecto a los niveles de contaminantes (Newton *et al.*, 1993). Por otra parte, las plumas contienen mayores concentraciones de algunos metales, como el Hg, que generalmente se encuentran en los órganos de las aves, por lo que concentraciones en las plumas pueden ser más fáciles de medir (Furness *et al.*, 1986) y la relación de concentración de metales en las plumas con otros tejidos, es bastante consistente para mayoría de los metales (Burger, 1994, Burger y Gochfeld, 1996).

Al investigar el origen de los metales en plumas, es fundamental conocer los mecanismos físicos y biológicos para determinar sus niveles.

La captación de metales por las plumas se puede producir de tres maneras: a través de los alimentos y la incorporación durante el crecimiento de las plumas, a través del acicalamiento (metales pesados en excreciones y secreciones de la glándula puede contaminar plumas) y a través del contacto directo con el aire, el agua, el suelo y las plantas (Furness y Greenwood, 1993; Weyers *et al.*, 1988; Dauwe *et al.*, 2002).

Los niveles de metales pesados detectados a partir de plumas son por tanto la suma de las fracciones endógenas y exógenas. La fracción exógena es el resultado de la contaminación durante el acicalamiento y la exposición directa a los contaminantes ambientales (Weyers *et al.*, 1988). La fracción endógena es el resultado del transporte de los metales a través del torrente sanguíneo que se unen a la queratina cuando se forman las plumas (Dauwe *et al.*, 2002).

Los metales pesados pueden unirse a las moléculas de las plumas durante el corto período de crecimiento de las mismas cuando la pluma está conectada con el torrente sanguíneo a través de los vasos sanguíneos pequeños (Burger, 1993). Después de que la pluma esté totalmente formada, se da la atrofia de los vasos sanguíneos y comienza la muda (Denneman y Douben, 1993). Las aves son capaces de eliminar una parte sustancial de la carga de metales a través de su plumaje durante el período de muda (Burger, 1993; Hughes *et al.*, 1997). Cuando se haya completado la muda, aumenta los niveles de algunos metales pesados en los tejidos internos hasta la muda siguiente, repitiéndose así el proceso (Braune y Gaskin, 1987). Así, la concentración interna de algunos metales pesados durante la muda puede no ser constante (Altmeyer *et al.*, 1991). La contaminación externa puede tener un impacto especialmente importante en las concentraciones de metales pesados encontrados en las plumas (Burger, 1993). La contaminación externa puede ocurrir a partir de la deposición directa atmosférica o de la deposición de contaminantes durante el acicalamiento (Goede y Bruin, 1984).

Otro método no invasivo es la recogida de muestras de sangre, que puede dar información en la frecuencia de la exposición, la estacionalidad y los alimentos asociados con la exposición a metales pesados (Mateo *et al.*, 1999). Por ejemplo, la actividad del ácido δ -aminolevulínico dehidratasa (ALA-D) no solo permite detectar la exposición a plomo sino también puede ser considerado como un marcador biológico de los efectos debidos a la inhibición de la síntesis del grupo hemo (Dieter *et al.*, 1976; Scheuhammer y Wilson, 1990).

La Comunidad de Madrid se halla enclavada geográficamente en el centro de la Península Ibérica, en el extremo suroeste de Europa. Se trata de una de las comunidades autónomas más pobladas y como consecuencia de esto las emisiones de residuos urbanos, el consumo de energía, el tráfico y la existencia de distintas industrias hace que haya una importante emisión de contaminantes y metales pesados. Actualmente hay 27 estaciones de medición de la contaminación en Madrid (Tabla 1) en los que se miden gran número de contaminantes atmosféricos, pero la legislación vigente obliga a medir en el aire ambiente: dióxido de azufre, partículas en suspensión, monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno, benceno, ozono, plomo, arsénico, cadmio, mercurio, níquel e hidrocarburos aromáticos policíclicos (servicio de calidad del aire de Madrid, 2009).

Tabla 1: Nombre, dirección y distritos municipales de las estaciones remotas.

EST..	NOMBRE	DIRECCIÓN	DISTRITO MUNICIPAL
01	PASEO DE RECOLETOS	Pº de Recoletos -Calle Almirante	CENTRO
03	PL. DEL CARMEN	Pza. del Carmen - Tres Cruces	CENTRO
04	PL. DE ESPAÑA	Pza. España	MONCLOA
05	BARRIO DEL PILAR	Avda. Betanzos – Monforte de Lemos	FUENCARRAL
06	PL. DR. MARAÑÓN	Pza. Dr. Marañón – Miguel Ángel	CHAMBERÍ
07	PL. M. SALAMANCA	Pza. Marqués de Salamanca	SALAMANCA
08	ESCUELAS AGUIRRE	C/Alcalá – O'Donnell	SALAMANCA
09	PL. LUCA DE TENA	Pza. Luca Tena -Canarias	ARGANZUELA
10	CUATRO CAMINOS	Avda. Pablo Iglesias – Marqués de Lerma	CHAMBERÍ
11	AV. RAMÓN Y CAJAL	Avda. Ramón y Cajal – Ppe. De Vergara	CHAMARTÍN
12	PL. MANUEL BECERRA	Pza. Manuel Becerra – Dr. Gómez Ulla	SALAMANCA
13	VALLECAS	C/ Arroyo del Olivar – Rio Grande	PUENTE VALLECAS
14	PL. FDEZ. LADREDA	Pza. Fdez. Ladreda -Usera	USERA
16	ARTURO SORIA	C/ Arturo Soria – Vizconde de los Asilos	CIUDAD LINEAL
17	VILLAVERDE	C/ Arroyo Bueno	VILLAVERDE
18	FAROLILLO	C/ Farolillo -Ervigio	CARABANCHEL
19	ALTO EXTREMADURA	C/ Huerta Castañeda -Higueras	LATINA
20	AV. DE MORATALAZ	Avda. Moratalaz – Camino Vinateros	MORATALAZ
21	ISAAC PERAL	C/ Isaac Peral – Hospital San Carlos	MONCLOA
22	PASEO DE PONTONES	Pº Pontones – Pta. Toledo	ARGANZUELA
23	C/ ALCALÁ (Final)	C/ Alcalá – Avda. América	SAN BLAS
24	CASA DE CAMPO	Casa de Campo (Terminal del Teleférico)	MONCLOA
25	SANTA EUGENIA	C/ Poza de la Sal – Santa Eugenia	VILLA VALLECAS
26	URB. EMBAJADA	C/ Soto Hidalgo, 2	BARAJAS
27	BARAJAS(PUEBLO)	C/ Júpiter, 21	BARAJAS

La finalidad de este estudio ha sido la evaluación de la exposición a metales pesados (plomo, cadmio, cromo y zinc) en autillos (*Otus scops*) de la Comunidad de Madrid, la distribución en distintos tejidos y evaluar la relación entre la presencia de metales y la presencia de herpesvirus y *Synhimantus (dyspharynx)* sp. como consecuencia de posibles efectos inmunodepresores.

2. Material y métodos

2.1. Animales y muestras de estudio

Las muestras seleccionadas para el ámbito de estudio, pertenecientes a *Otus scops*, son plumas y sangre. Fueron recogidas entre los meses de Junio y Agosto de 2009. Las muestras de plumas fueron almacenadas en bolsas de plástico herméticas y las muestras de sangre fueron almacenadas en microtubos, las cuales fueron recibidas desde el Centro de Recuperación de Rapaces Nocturnas Brinzal.

Las muestras pertenecen a 17 volantes y 1 joven. Éstos a su vez se dividen en 9 volantes sanos y 8 volantes y 1 joven enfermos afectados por herpesvirus y *Synhimantus (dyspharynx)* sp. De los enfermos hay 2 muertos correspondientes a uno de los volantes y el joven. Los animales enfermos pertenecen al centro de Madrid (figura 14) siendo una zona con gran afluencia de tráfico y de industrias y por tanto con muchas emisiones. Los animales sanos son recogidos en áreas fuera de Madrid (figura 15) y por tanto menos contaminadas. Las muestras fueron conservadas en el congelador hasta la manipulación de ellas.

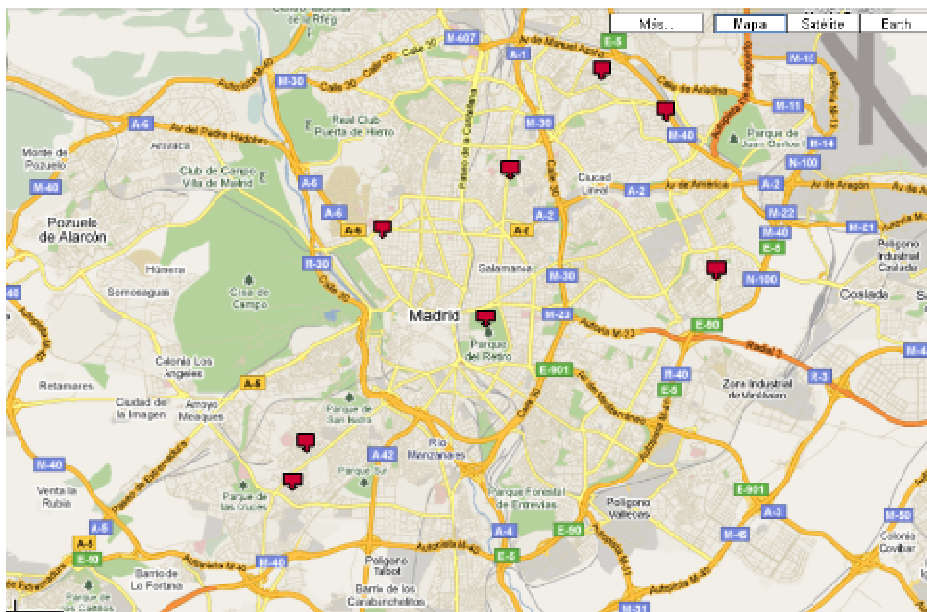


Figura 1: Localización de los individuos enfermos objeto de estudio



Figura 2: Localización individuos sanos objeto de estudio

2.2. Preparación y limpieza del material del material

Para eliminar la contaminación con metales pesados, todo el material utilizado (matraces aforados, vasos de precipitado, tijeras, pinzas) se lavó previamente con agua corriente y jabón. Tras esto se lava con una solución de ácido nítrico y agua desionizada para eliminar cualquier resto de metal o residuos en los materiales.

Los vasos para digestión eran lavados tras cada utilización. La limpieza de estos recipientes se realizaba mediante el llenado hasta la mitad de ácido nítrico diluido llevándolo a baño de ultrasonidos a 69° C tiempo tras el cual se garantiza la limpieza de estos vasos digestores. A continuación se agitaba repetidamente el vaso, para ayudar a que el ácido nítrico entrase en contacto con toda la superficie interna, realizando posteriormente, repetidos enjuagues con agua Milli-Q.

2.3. Tratamiento de las muestras

2.3.1. Plumas

En primer lugar se toma el peso húmedo en la balanza analítica de las plumas. Tras el peso de las plumas, se sometieron a un lavado consistente en: lavado con hidróxido sódico 0,25 molar, después con agua y jabón y por último con agua desionizada. Este lavado tiene como fin eliminar la contaminación externa adherida. Una vez realizado el lavado, se sometieron a un secado en la estufa Heraeus a 60 °C durante 24 horas. Tras el secado, se volvieron a pesar las muestras, obteniendo así el peso seco.

Una vez realizado los pesos, se procede a la preparación de las muestras en los vasos de digestión, se trata de un carrusel que consta de 6 vasos. Estos vasos son lavados previamente con una solución de nítrico en el equipo ultrasonido durante unos 40 minutos. Transcurrido este tiempo se desecha la solución de nítrico, se enjuagan con agua desionizada y se secan los vasos. Una vez hecho esto, se procede a introducir las

muestras de plumas, poniendo en el vaso 1 la muestra de mayor peso ya que este vaso contiene una membrana de control de presión. Además, al vaso 6 no le añadimos muestra ya que éste nos va a servir de blanco. Una vez introducidas las muestras se trituran con pequeños cortes con unas tijeras para facilitar la digestión. A continuación, se añaden los reactivos, siendo éstos:

- 5 ml Acido Nítrico 69% (TMA) Hiperpur
- 2 ml Hidrógeno Peróxido 30% Suprapur
- 3 ml Agua desionizada: agua obtenida en el equipo Mili-Q a partir de agua destilada 8,1

2.3.2. Sangre

Las muestras de sangre fueron tratadas en fresco, por lo que no fue necesario el secado de éstas, teniendo por tanto el peso húmedo.

Una vez pesados, se procede a la introducción de las muestras en los vasos de digestión, utilizando los mismos reactivos que para las muestras de plumas.

En total se realizaron 7 carruseles entre muestras de plumas y de sangre.

2.3.3. Digestión

La digestión se realizó mediante el MICROONDAS Milestone. Modelo Ethos Sel. Se trata de un método de digestión para muestras biológicas “organic up to 0,4”, bajo condiciones de presión controlada.

Una vez realizada la digestión de las muestras, se deja enfriar durante 1 hora y se transfiere cada una a un matraz aforado de 25 ml llevando a tal volumen con agua desionizada.

Las distintas muestras fueron almacenadas en duquesas de plástico y conservadas en frigorífico hasta el análisis.

2.4. Análisis de metales

El análisis fue realizado mediante ICP-MS Agilent 7500ce. El equipo es capaz de realizar análisis en un rango de concentración de nueve órdenes de magnitud. De los diferentes isótopos medidos, fueron seleccionados por ser menos interferidos por otros elementos: *Cromo-52*, *Zinc-66*, *Cadmio-111* y *Plomo 208*. Los límites de detección de los metales a analizar se calcularon para el equipo durante el periodo de realización de los análisis, siendo los siguientes, cadmio: 0,02 ppb, plomo: 0,05 ppb, zinc: 3,07 ppb, y cromo: 0,2 ppb.

2.6. Tratamiento estadístico

En primer lugar, se ha realizado la transformación de los datos obtenidos tras el análisis de las muestras a través del software Microsoft Office Excel 2007. Las operaciones realizadas se enumeran a continuación:

1. Agrupación de los resultados por tipo de muestra.
2. Obtención de las concentraciones de las muestras descontando los blancos.
3. Obtención de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ (ppm) de peso seco a partir de las concentraciones medidas en ppb.

4. Obtención de las concentraciones en $\mu\text{g/g}$ (ppm) de peso húmedo a partir de las concentraciones medidas en ppb.
5. Cálculo de distintos parámetros estadísticos: media, desviación estándar y valores mínimos y máximos.

En segundo lugar, se ha realizado el análisis estadístico mediante el software SPSS versión 15.0, realizando las siguientes operaciones:

1. Comprobación de la distribución normal de los datos tomando como referencia el nivel de significancia 0,05 y por tanto para los valores $P > 0,05$ correspondería una distribución normal.

Realización de test paramétricos y no paramétricos. Los test paramétricos se utilizan cuando se correlacionan datos que siguen una distribución normal. Los test no paramétricos se utilizan cuando alguna o todas las variables siguen una distribución no normal. Estos test se han realizado a través de las correlaciones bivariadas que calcula el coeficiente de correlación R de Pearson, siendo este un test paramétrico y el coeficiente de correlación rho de Spearman que es un test no paramétrico. En ambos casos si el coeficiente de correlación es menor que 0,05 la correlación es estadísticamente significativa. Este tipo de test se ha realizado para la correlación entre metales, correlación de un metal en los tejidos estudiados y la correlación entre la longitud de plumas y metal.

3. Resultados

3.1. Metales

3.1.1. Concentraciones de metales en pluma

Observando los resultados obtenidos (tabla 3) podemos comprobar que los valores más altos pertenecen al zinc y al plomo seguido del cromo. El valor más bajo pertenece al cadmio.

Tabla 3: Concentraciones de metales en pluma ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Media	1,021	4,369	0,049	1,637
DS	1,954	1,433	0,125	2,890
Mínimo	0,060	1,255	BLD	BLD
Máximo	7,155	8,245	0,398	8,411

BLD: Bajo Límite de Detección.

En el gráfico (figura 3) podemos ver el alto contenido de zinc respecto a las demás concentraciones de metales pesados en pluma.

Concentración de metales en pluma

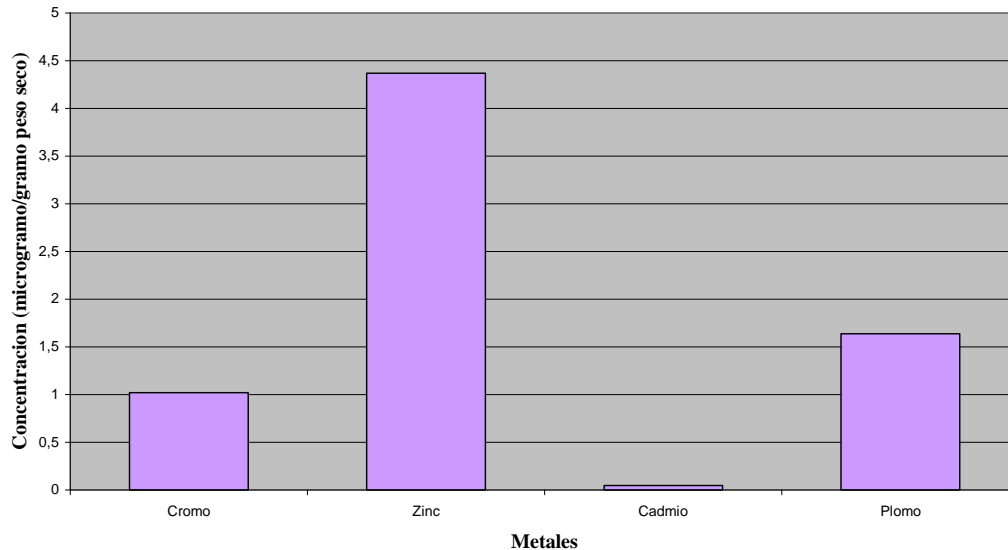


Figura 3: Concentración de metales en pluma

3.1.2. Concentraciones de metales en sangre

En los resultados obtenidos en sangre (tabla 4) podemos observar que sigue aproximadamente el mismo patrón que en pluma aunque los valores en sangre son más bajos. Los niveles más altos se dan para el zinc seguido del plomo. Los niveles más bajos se dan en cromo y cadmio.

Tabla 4: Concentraciones de metales en sangre ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Media	0,006	3,435	0,001	0,017
DS	0,006	1,048	-	0,003
Mínimo	0,0003	1,062	BLD	BLD
Máximo	0,022	4,700	0,003	0,031

BLD: Bajo Límite de Detección.

En el gráfico (figura 4) podemos ver el alto contenido de zinc respecto a las demás concentraciones de metales pesados en sangre.

Concentración de metales en sangre

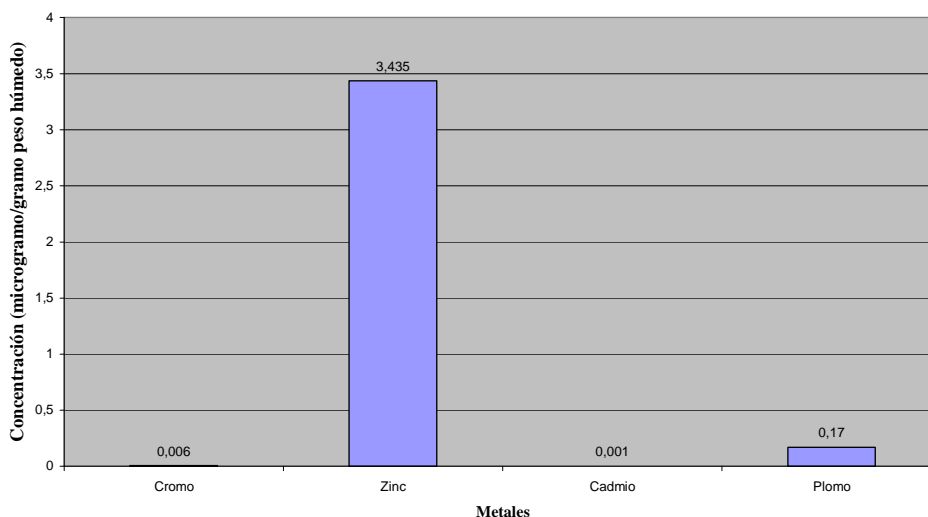


Figura 4: Concentración de metales en sangre

3.1.3. Concentraciones de metales en pluma de animales sanos y enfermos

Analizando los resultados obtenidos de la tabla 5 podemos comprobar que los valores más altos en animales sanos se dan para zinc y plomo seguido del cromo. El valor más bajo se da en cadmio.

Tabla 5: Concentraciones de metales en pluma de animales sanos ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Media	1,117	4,965	0,070	3,215
DS	2,422	1,646	0,147	3,584
Mínimo	0,060	3,291	BLD	BLD
Máximo	7,155	8,245	0,398	8,411

BLD: Bajo Límite de Detección.

Observando los resultados obtenidos (tabla 6) para los animales enfermos podemos comprobar que el valor más alto corresponde al zinc al igual que en animales sanos seguido de cromo difiriendo con los animales sanos el cual el segundo más alto es el plomo. Los valores más bajos se dan para plomo y zinc.

Tabla 6: Concentraciones de metales en pluma de animales enfermos ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Media	0,851	3,891	0,0001	0,060
DS	1,607	1,096	0,000175	0,084
Mínimo	0,109	1,255	BLD	BLD
Máximo	5,355	5,056	0,000342	0,185

BLD: Bajo Límite de Detección.

Concentración de metales en pluma de individuos sanos

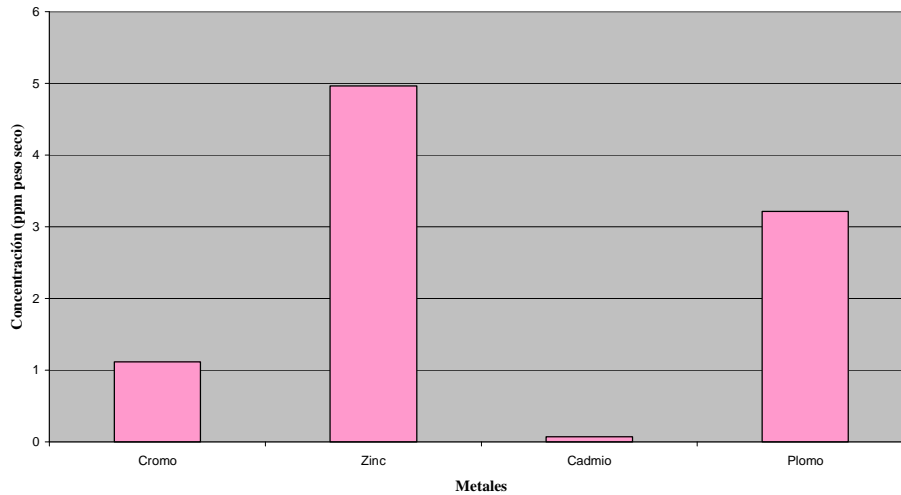


Figura 5: Concentración de metales en pluma de individuos sanos

Concentración de metales en pluma de individuos enfermos

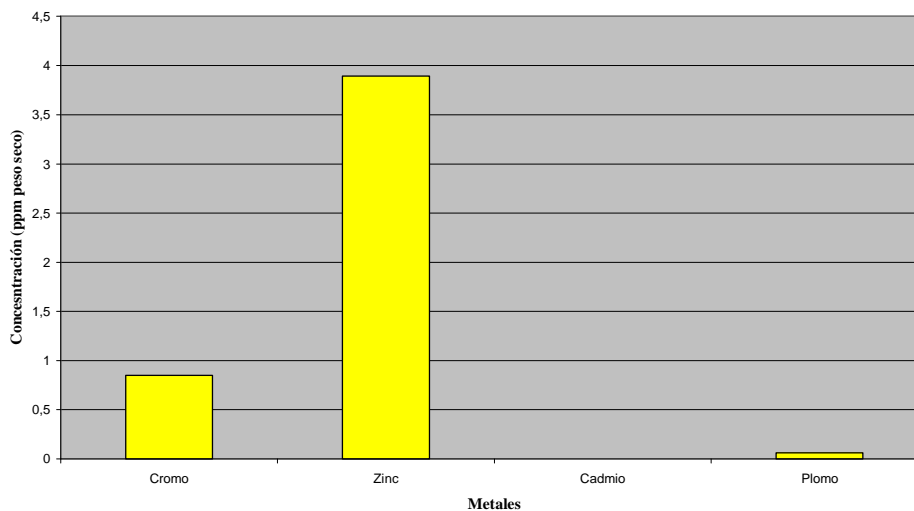


Figura 6: Concentración de metales en pluma de individuos enfermos

En las figuras 5 y 6 se representan los niveles de metales en pluma de individuos sanos y enfermos.

3.1.4. Concentraciones de metales en sangre de animales sanos y enfermos

Analizando los resultados obtenidos de la tabla 7 podemos comprobar que sigue el mismo patrón que en pluma. Los valores más altos en animales sanos se dan para zinc y plomo seguido del cromo. El valor más bajo se da en cadmio.

Tabla 7: Concentraciones de metales en sangre de animales sanos ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Media	0,008	3,073	0,003	0,031
DS	0,008	1,428	-	-
Mínimo	BLD	1,062	BLD	BLD
Máximo	0,022	4,700	0,003	0,031

BLD: Bajo Límite de Detección.

Observando los resultados obtenidos (tabla 8) para los animales enfermos podemos comprobar que el valor más alto corresponde al zinc. Los valores más bajos los encontramos para cadmio por debajo del límite de detección.

Tabla 8: Concentraciones de metales en sangre de animales enfermos ($\mu\text{g/g}$ peso húmedo)

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Media	0,003	3,756	BLD	0,003
DS	0,001	0,408	-	-
Mínimo	BLD	BLD	BLD	BLD
Máximo	0,005	4,250	BLD	0,003

BLD: Bajo Límite de Detección.

3.2. Correlaciones

3.2.1. Correlación de un metal con respecto a la longitud de la pluma

En el análisis de la correlación entre cada metal estudiado y la longitud de las plumas de los individuos, se ha aplicado el test paramétrico (Pearson) y el no paramétrico (Spearman) según los datos sigan una distribución normal o no normal. Los resultados obtenidos se muestran a continuación en la tabla 9.

Tabla 9: Correlación de metales con longitud de la pluma del animal

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Longitud pluma	-0,218(rho)	0,249(R)	0,467(rho)	0,071(rho)

R: coeficiente de correlación de Pearson.

Rho: Coeficiente de correlación de Spearman.

Tras el estudio de las correlaciones no se han encontrado correlaciones estadísticamente significativas.

3.2.2. Correlación entre metales en plumas

Al igual que en el caso anterior, se ha procedido a estudiar la correlación existente entre los distintos metales que se encuentran en pluma. En este caso solo se ha tenido en cuenta el test no paramétrico (Spearman) porque las correlaciones se dan entre datos

con distribución normal y datos con distribución no normal. Los resultados se muestran en la tabla 10.

Tabla 10: Correlación de los distintos metales en plumas

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Cromo	1,000	-0,034	0,164	0,381
Zinc	-0,034	1,000	0,576	0,405
Cadmio	0,164	0,576	1,000	0,943(**)
Plomo	0,381	0,405	0,943(**)	1,000

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

Tras el estudio de las correlaciones se ha encontrado correlación estadísticamente significativa en cadmio y plomo ($P < 0,05$; ρ : 0,943).

El resultado positivo indica una relación directa entre ambos metales.

Para el resto de casos no se han obtenido correlaciones estadísticamente significativas.

3.2.3. Correlación entre metales en sangre

Para el estudio de la correlación en el caso de la sangre, se ha seguido el test no paramétrico por las mismas razones mencionadas en el caso de la pluma. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 11.

Tabla 11: Correlación de los distintos metales en sangre

	Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Cromo	1,000	0,033	-	1,000
Zinc	0,033	1,000	-	-1,000
Cadmio	-	-	-	-
Plomo	1,000(**)	-1,000(**)	-	1,000

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

En el análisis de correlación entre los metales en sangre no se han obtenido correlaciones estadísticamente significativas.

3.2.4. Correlación de un metal en los tejidos estudiados

Para el estudio de la correlación de un metal en los tejidos estudiados, se ha seguido el test no paramétrico (Spearman) porque las correlaciones se dan entre datos con distribución normal y datos con distribución no normal. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 13.

Tabla 13: Correlación de un metal en los tejidos estudiados

		Sangre			
		Cromo	Zinc	Cadmio	Plomo
Pluma	Cromo	-0,121			
	Zinc		-0,105		
	Cadmio			-	
	Plomo				-

En el análisis de correlación de un metal en los tejidos estudiados no se han obtenido correlaciones estadísticamente significativas.

4. Discusión

4.1. Acumulación de metales pesados en *Otus scops*

4.1.1. Acumulación de plomo en plumas

Los resultados obtenidos en el presente estudio, muestran una mayor acumulación de plomo en pluma que en sangre.

Bianchi *et al.* (2008), analizan niveles de plomo en las plumas de distintas aves y en concreto, en *Otus scops* obtuvieron una concentración 10 veces mayor de plomo que en nuestro estudio, probablemente debido a que los individuos utilizados por Bianchi *et al.* (2008) pertenecen a una zona muy antropizada y probablemente más contaminada por plomo que nuestra zona de estudio.

Debido a la escasa información acerca de estudios realizados con *Otus scops*, comparamos con otras especies de aves rapaces nocturnas encontradas en distintos estudios.

Dauwe *et al.* (2003), analizando los niveles de plomo en pluma de *Athene noctua*, *Strix aluco* y *Tyto alba*, obtuvieron concentraciones de plomo entre un 60% y 80% superiores que en nuestro estudio, probablemente debido a que en este estudio trabajan con animales adultos, por lo que han podido estar expuestos a mayores cantidades de plomo a lo largo del tiempo y por haber ingerido mayores cantidades de este metal a través del alimento.

Battaglia *et al.* (2005), analizan niveles de plomo en pluma de *Athene noctua*, obteniendo concentraciones de plomo del 20% superiores que en nuestro estudio; la razón puede ser la misma que la mencionada anteriormente.

Las plumas suponen un indicador de exposición al plomo y metales pesados en general, debido a que las plumas se irrigan por vasos sanguíneos y los metales se incorporan a la estructura de la queratina, de manera que una vez depositado allí, el plomo es inmovilizado (Lewis y Furness, 1991).

4.1.2. Acumulación de plomo en sangre

García Fernández *et al.* (1997), analizaron niveles de plomo en sangre de *Athene noctua* y *Bubo bubo*. Las concentraciones obtenidas son mayores que en nuestro estudio con *Otus scops*, ésto puede ser debido al uso de aves adultas y por tanto, de mayor tamaño. Las aves rapaces más grandes tienen más probabilidad de ingerir más plomo, que aves rapaces más pequeñas (Pain y Amiard Triquet, 1993).

El plomo en sangre es un buen indicador de la exposición reciente, mientras que la exposición crónica puede ser estimada en tejidos acumuladores como hueso (Burger y Gochfeld 2000a; Dauwe *et al.*, 2000).

4.1.3. Acumulación de cadmio en pluma

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran una mayor acumulación de cadmio en pluma que en sangre.

Bianchi *et al.* (2008), analizaron niveles de cadmio en las plumas de distintas aves y en concreto, en *Otus scops* obtuvieron una concentración 8 veces mayor de cadmio que en nuestro estudio, probablemente debido a que los individuos utilizados pertenecen a una zona muy antropizada y probablemente más contaminada por cadmio que nuestra zona de estudio.

Dauwe *et al.* (2003), analizan los niveles de cadmio en pluma de *Athene noctua*, *Strix aluco* y *Tyto alba*. Los resultados obtenidos en el estudio para *Athene noctua* y *Tyto alba* son semejantes a las concentraciones obtenidas en nuestro estudio. Para *Strix aluco* el nivel de cadmio obtenido en pluma es un 80% superior al obtenido en nuestro estudio, esto podría ser debido a la utilización de individuos adultos y por tanto una mayor exposición a este metal, teniendo esta especie es el doble de tamaño que *Otus scops* y por tanto mayores necesidades alimenticias.

Hay que tener en cuenta que las concentraciones de cadmio en aves son por lo general mayores en riñón, algo menores en hígado y muy bajos en músculo (Nicholson, 1981; Thompson, 1990), debido a este equilibrio cinético, las concentraciones de cadmio en pluma son bajas.

Los niveles de cadmio en pluma, reflejan los niveles de metal en sangre durante el periodo de crecimiento de las plumas, cuando la pluma está conectada con los vasos sanguíneos y los metales se han incorporado a la estructura de la queratina (Dauwe *et al.*, 2000).

La interpretación de niveles de cadmio en plumas requiere más estudios sobre la estabilidad de cadmio en la matriz de la pluma, la relación entre la dieta y la deposición de cadmio en pluma y la importancia relativa de la contaminación externa frente a la deposición fisiológica (Scheuhammer, 1987).

4.1.4. Acumulación de cadmio en sangre

Kristina *et al.* (2004), analizan los niveles de cadmio en sangre de *Falco peregrinus* cuya concentración obtenida es de 0,042 µg/dl peso húmedo, siendo mayor que la concentración obtenida en nuestro estudio (0,001 µg /dl peso húmedo) probablemente debido a que los individuos utilizados por Kristine *et al.* (2004) pertenecen a una zona más contaminada por cadmio que nuestra zona de estudio.

4.1.5. Acumulación de zinc en pluma

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran una mayor acumulación de zinc en pluma que en sangre.

La mayoría de los datos publicados de zinc en relación con plumas es en aves marinas, aves zancudas y galliformes.

En nuestro caso, en *Otus scops* el zinc presenta concentraciones altas lo cual coincide con el resto de estudios (Dauwe *et al.*, 2003; Rattner *et al.*, 2008; Naccari *et al.*, 2009) en rapaces nocturnas.

Los elevados niveles de zinc en plumas pueden ser debidos a la pigmentación de las plumas para lo cual se utiliza zinc, entre otros elementos (Klasing, 1998). Por ejemplo, la eumelanina es la responsable del color negruzco en plumas y tiene gran capacidad de unión con varios iones metálicos como el zinc, entre otros (Niecke *et al.*, 1999).

4.1.6. Acumulación de zinc en sangre

Rattner *et al.* (2008) y Kristine *et al.* (2004), analizan los niveles de zinc coincidiendo con nuestro estudio en que se dan las concentraciones más altas con respecto a otros metales. La razón de que los niveles de zinc sean elevados en general, es porque es uno de los metales traza más abundantes en el organismo, encontrándose en todos los tejidos y sus fluidos, siendo además un cofactor de más de 300 sistemas enzimáticos (ATSDR, 2005). Además el zinc se considera protector contra la toxicidad del cadmio (Hutton, 1981).

4.1.7 Acumulación de cromo en pluma

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran una mayor acumulación de cromo en pluma que en sangre.

La concentración media de cromo en nuestro estudio en *Otus scops* es de 1,021 µg/g de peso seco es superado entre un 40 y un 60% por los niveles obtenido por Dauwe *et al.* (2003) en *Strix aluco*, *Tyto alba* y *Accipiter nisus*, probablemente esto es debido a que se trata de especies que superan al Autillo en más del doble de tamaño, además de tratarse de individuos adultos. Hay que tener en cuenta que el cromo es un elemento esencial para la dieta por lo que se acumula en el organismo (ATSDR, 2008), además de proceder de actividades antrópicas (Parekh *et al.*, 1989).

4.1.8. Acumulación de cromo en sangre

Las concentraciones medias obtenidas por Rattner *et al.* (2008), son muy superiores (0,640 µg /dl peso húmedo en el año 2000 y 1,314 µg /dl peso húmedo en el año 2001) a las obtenidas en nuestro estudio (0,006 µg /dl peso húmedo), esto podría ser debido a las razones mencionadas en el apartado anterior debido a que este estudio utilizan la especie *Pandion haleaetus*, siendo ésta un ave rapaz diurna y además de mayor tamaño y con distintos hábitos alimenticios.

4.2. Correlaciones

4.2.1. Correlación de cada metal con respecto a la longitud de la pluma

La longitud de la pluma fue medida para establecer la edad de los individuos estudiados. En los resultados obtenidos mediante el análisis de la correlación entre cada metal estudiado y la longitud de las plumas, no se han encontrado correlaciones estadísticamente significativas, de esta manera no podemos sacar conclusiones acerca de la disminución o aumento de la concentración de un metal respecto a la edad, a

diferencia de Harmata (1991), el cual describió una asociación positiva entre la edad y concentración de plomo en águilas migrantes (*Aquila chrysaetos*). Esto puede ser debido a la poca diversidad de muestra con respecto al factor edad, disponible en el presente estudio.

4.2.2. Correlación entre metales en un mismo tejido

En pluma, hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre cadmio y plomo ($P < 0,05$; $\rho = 0,943$), esto puede deberse a la existencia de un mecanismo de absorción común a través del cual los metales se transportan en pluma sin presentar una relación antagonista, ya que al ser individuos volantones en su mayoría y un joven (por tanto en periodo de crecimiento), tengan un elevado flujo sanguíneo y esto provoque que ambos metales pesados se dirijan a ellas.

En sangre no se han obtenido correlaciones entre metales, probablemente influido por el hecho de disponer de baja cantidad de muestra, no llegando al límite de detección en muchos casos.

4.2.3. Correlación de cada metal con respecto a los tejidos estudiados

En el análisis estadístico no se han obtenido correlaciones estadísticamente significativas. Dicha ausencia de correlación también se ha dado entre las concentraciones de plomo en sangre y tejidos de varias especies de rapaces (Pattee *et al.*, 1990; Pain *et al.*, 1995; Harmata y Restani, 1995; García Fernández *et al.*, 1997; Mateo *et al.*, 1999; Wayland y Bollinger, 1999).

4.3. Comparación de resultados con distintas localizaciones

Martínez López *et al.* (2004), estudian la concentración en pluma y sangre de plomo en *Hieraaetus pennatus*, *Accipiter gentiles* y *Buteo buteo*. Las concentraciones medias obtenidas en pluma son 0,72 $\mu\text{g/g}$ peso seco, 0,098 $\mu\text{g/g}$ peso seco y 1,48 $\mu\text{g/g}$ peso seco respectivamente. Las muestras fueron recogidas de individuos que se localizan en el bosque mediterráneo lejos de cualquier fuente de metales pesados, pudiéndose considerar como indicador de niveles de zonas no contaminadas. Nuestros resultados en *Otus scops* recogen una concentración media de 1,637 $\mu\text{g/g}$ peso seco, el cual incluye muestras de zonas consideradas limpias y zonas contaminadas como es la capital de Madrid.

Las cantidades medias obtenidas para sangre en *Hieraaetus pennatus*, *Accipiter gentiles* y *Buteo buteo* son 3,21 $\mu\text{g/dl}$ de peso húmedo, 7,6 $\mu\text{g/dl}$ de peso húmedo y 2,74 $\mu\text{g/dl}$ de peso húmedo. Nuestros resultados en *Otus scops* recogen un nivel medio de 0,018 $\mu\text{g/dl}$ de peso húmedo.

La concentración media ligeramente superior obtenida en pluma en nuestro estudio puede sugerir un cierto grado de contaminación en nuestra área de estudio. En sangre, la concentración es baja, probablemente debido a que nuestros individuos son volantones y por tanto en periodo de crecimiento, los metales que pudiera llevar la sangre son distribuidos a distintos tejidos como la pluma.

Rattner *et al.* (2008), estudian los niveles de metales pesados en sangre y pluma de águila pescadora (*Pandion haliaetus*) en la bahía de Chesapeake a lo largo de 2 años. Estas bahías sufrieron durante la mitad del siglo XX una gran cantidad de contaminación y degradación debido a una refinería de petróleo.

Todas las concentraciones medias de los metales pesados en pluma fueron mayores que en nuestro estudio excepto para plomo, lo que podría sugerir que nuestra zona de estudio esta más contaminada por plomo que la bahía de Chesapeake, por ser una zona urbana con gran actividad antrópica y unos niveles de fondo de plomo debidas a la presión del tráfico rodado antes de la prohibición del plomo como combustible detonante.

Las concentraciones medias obtenidas en sangre para zinc en el año 2000 es de 23,744 µg/dl peso húmedo y en el año 2001 de 29,468 µg/dl peso húmedo, para cromo en el año 2000 es de 0,640 µg/dl peso húmedo y en el año 2001 es de 1,314 µg/dl peso húmedo. Esto podría ser debido a que el zinc y el cromo son elementos esenciales, están en mayor cantidad por ser individuos de mayor tamaño y con mayores necesidades alimenticias.

Movalli (2000), estudia niveles de metales pesados en plumas de individuos adultos y jóvenes de halcón (*Falco biarmicus jugger*) en 6 distritos de Pakistán. Las principales fuentes de contaminación de Pakistán incluyen el uso agrícola de fertilizantes, herbicidas y plaguicidas, derrames de sustancias peligrosas y problemas de eliminación de residuos industriales y urbanos (Baluch, U.K., 1995). Grandes concentraciones de metales pesados como mercurio se han medido en los ríos y agua de mar de Pakistán (Tariq *et al.*, 1994; Tehseen *et al.*, 1994).

Las concentraciones medias obtenidas en su estudio son para plomo 1,56 µg/g peso seco, para zinc 107,4 µg/g peso seco, para cadmio 0,1 µg/g peso seco y para cromo 1,98 µg/g peso seco. Las concentraciones medias en nuestro estudio son para plomo 1,637 µg/g peso seco, para zinc 4,369 µg/g peso seco, para cadmio 0,049 µg/g peso seco y para cromo 1,021 µg/g peso seco. Ambos estudios coinciden en que la mayor concentración es para zinc ya que se trata de un metal esencial para el organismo. La concentración de plomo en nuestro estudio es ligeramente superior a la de Movalli, (2000) lo que podría sugerir que nuestra zona de estudio esta más contaminada.

Marnie *et al.* (2008), estudia los niveles de metales pesados en pluma de águila pescadora (*Pandion haliaetus*) en la bahía de Florida de individuos adultos y jóvenes. Las concentraciones medias obtenidas son para plomo 0,802 µg/g peso seco, cadmio 0,112 µg/g peso seco y cromo 1,08 µg/g peso seco. Las concentraciones medias obtenidas en nuestro estudio son para plomo 1,637 µg/g peso seco, cadmio 0,049 µg/g peso seco y cromo 1,021 µg/g peso seco. Las concentraciones de plomo obtenidos en nuestro estudio son mayores que para el águila pescadora por lo que podría sugerir que nuestra zona de estudio esta más contaminada por plomo que la bahía de Florida.

5.4. Comparación entre animales sanos y enfermos de nuestro estudio

Se han encontrado niveles de metales pesados más altos en los animales sanos que en los enfermos. Con esto podríamos sugerir a priori que el hecho de que las aves estén afectadas por herpesvirus y distintos parásitos, no viene condicionado por la inmunodepresión debida a la presencia de metales pesados.

Los animales sanos proceden de zonas alejadas del centro de Madrid y se pueden considerar como zonas con menor contaminación, sin embargo se han encontrado niveles mayores de metales pesados. Los animales enfermos proceden del centro urbano de Madrid.

Si bien hay que tener en cuenta el escaso número de muestras donde se detectaron niveles de metales lo cual puede sesgar los resultados obtenidos. Esto puede ser debido a la limitada cantidad de muestra disponible, lo cual puede determinar que los encontremos bajo el límite de detección para dichos metales. Todo ello nos sugiere la recomendación de realizar ulteriores estudios con una mayor cantidad de muestra para poder realizar un estudio estadístico adecuado, de donde emanar las conclusiones pertinentes.

Considerando los niveles de referencia para plomo en sangre para aves rapaces, niveles $\leq 15 \mu\text{g/dl}$ de peso húmedo representa la ausencia de exposición anormal a plomo y niveles de $20 \mu\text{g/dl}$ de peso húmedo en sangre son indicativos de exposición alta o subletal (Redig *et al.*, 1983; Samuel *et al.*, 1992; Sheuhammer, 1989; Henny *et al.*, 1991).

Considerando los niveles de plomo en sangre mencionados anteriormente, nuestros resultados ($0,018 \mu\text{g/dl}$ de peso húmedo) se encuentran dentro de la exposición normal, en zonas ausentes de fuentes de contaminación antropogénica por metales pesados.

Las altas concentraciones de plomo en pluma en individuos sanos, se ven influidas por el hecho de que un individuo tiene una concentración de $8,411 \mu\text{g/g}$ de peso seco. La muestra recogida de este ejemplar se encontraba en una urbanización de Miraflores de la Sierra.

El nivel más alto de los metales pesados estudiados ha aparecido para el cromo en pluma de un individuo sano perteneciente a un individuo encontrado en Morzarzal.

5. Conclusiones

La abundancia del zinc y su función como integrante en más de 200 enzimas, son factores que influyen en las elevadas concentraciones de este metal encontrados en ambos tejidos.

Los niveles de plomo encontrados en la Comunidad de Madrid son superiores a los de cadmio, lo cual queda reflejado en los resultados obtenidos en pluma y sangre.

No se han encontrado correlaciones entre cada metal con respecto a la longitud de la pluma, debido a la poca diversidad de muestra con respecto al factor edad, disponible en el presente estudio.

En pluma, la relación directa entre plomo y cadmio puede ser debida a la existencia de algún de un mecanismo de absorción común a través del cual los metales se transportan en pluma sin presentar una relación antagonista, ya que al ser individuos volantes en su mayoría y un joven (por tanto en periodo de crecimiento), tengan un elevado flujo sanguíneo y esto provoque que ambos metales pesados se dirijan a ellas.

Los niveles de plomo en pluma en el presente estudio son mayores que en otros estudios de distintas zonas (Pakistán, Región de Murcia, Florida y Chesapeake) y por tanto mayor contaminación en la comunidad de Madrid.

Los niveles de metales pesados son mayores en individuos sanos que en enfermos, por lo que a priori se puede afirmar que no existe una relación entre los niveles de metales pesados y la afección por herpesvirus y larvas de *Synhimantus (dyspharynx) sp.* debida a una inmunodepresión mediada por metales.

Las plumas de aves rapaces son aptas como biomonitores de la contaminación por metales pesados en el medio ambiente.

Debido al reducido número de muestras donde se han detectado niveles de metales por encima del límite de detección, por la limitada cantidad de muestra

disponible, es recomendable realizar ulteriores estudios con una mayor cantidad de muestra.

6. Referencias

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2005. Toxicological profile for Zinc. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, Georgia.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2008. [Toxicological Profile for Chromium](#). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- Altmeyer, M., Dittman, J., Dmowski, K., Wagner, G., Müller, P., 1991. Distribution of elements in flight feathers of a white-tailed eagle. *The Science of the Total Environment* 105, 157–164.
- Battaglia, A., Ghidini, S., Campanini, G., Spaggiari, R., 2005. Heavy metal contamination in little owl (*Athene noctua*) and common buzzard (*Buteo buteo*) from northern Italy. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60, 61–66.
- Bianchi, N., Ancora, S., Di Fazio, N., Leonzio, C., 2008. Cadmium, lead, and mercury levels in feathers of small passerine birds: noninvasive sampling strategy. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 2064–2070.
- Braune, B.M., Gaskin, D.E., 1987. A mercury budget for the Bonaparte's Gull during autumn moult. *Ornis Scandinavica* 18, 244–250.
- Burger, J., 1993. Metals in avian feathers: bioindicators of environmental pollution. *Reviews in Environmental Toxicology* 5, 203–311.
- Burger, J., 1996. Heavy metal and selenium levels in feathers of Franklin's Gulls in interior North America. *Auk* 113, 399–407.
- Burger, J., Gochfeld, M., 1994. Behavioral impairments of leadinjected young herring gulls in nature. *Fundamental and Applied Toxicology* 23, 353–361.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2000a. Metals levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *The Science of the Total Environment* 257, 37–52.
- Dauwe, T., Bervoets, L., Blust, R., Pinxten, R., Eens, M., 2000. Can excrement and feathers of nestlings songbirds be used as biomonitors for heavy metal pollution?. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39, 541–546.
- Dauwe, T., Bervoets, L., Janssens, E., 2002. Blue tit feathers as biomonitors for heavy metal pollution. *Ecological Indicators* 1, 227–234.
- Dauwe, T., Bervoets, L., Pinxten, R., Blust, R., Eens, M., 2003. Variation of heavy metals within and among feathers of birds of prey: effects of molt and external contamination. *Environmental Pollution* 124, 429–436.
- Denneman, W.D., Douben, P.E.T., 1993. Trace metals in primary feathers of the barn owl (*Tyto alba guttattus*) in the Netherlands. *Environmental Pollution* 82, 301–310.
- Dieter, M.P., Perry, M.C., Mulhern, B.M., 1976. Lead and PCB's in cavansback ducks: Relationship between enzyme levels and residues in blood. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 5, 1–13.
- Esselink, H., van der Geld, F.M., Jager, L.P., Posthuma-Trupie, G.A., Zoun, P.E.F., Baars, A.J., 1995. Biomonitoring heavy metals using the Barn Owl (*Tyto alba guttata*): sources of variation especially relating to body condition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 28, 471–486.

- Furness, R.W., Greenwood, J.J.D., 1993. *Birds as Monitors of Environmental Change*. Chapman and Hall, London, UK.
- Furness, R.W., Muirhead, S.J., Woodburn, M., 1986. Using bird feathers to measure mercury in the environment: relationships between mercury content and moult. *Marine Pollution Bulletin* 17, 27-30.
- García Fernández, A.J., Motas Guzmán, M., Navas, I., María Mojica, P., Luna, A., Sánchez García, J.A., 1997. Environmental exposure and distribution of lead in four species of raptors in southeastern Spain. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 33, 76–82.
- Goede, A.A., Bruin, M., 1984. The use of bird feather parts as a monitor for metal pollution. *Environmental Pollution* B8, 281–298.
- Hahn, E., Hahn, K., Stoepler, M., 1993. Bird feathers as bioindicators in areas of the German Environmental Specimen Bank— bioaccumulation of mercury in food chains and exogenous deposition of atmospheric pollution with lead and cadmium. *The Science of the Total Environment* 139/140, 259–270.
- Harmata, A.R., 1991. Blood contaminants of migrant golden and bald eagles in Montana with notes on capture, size and gender assignment. *The Journal of Raptor Research* 25, 155.
- Harmata, A.R., Restani, M., 1995. Environmental contaminants and cholinesterase in blood of vernal migrant bald and golden eagles in Montana. *Intermountain Journal of Sciences* 1, 1-15.
- Henny, C.J., Blus, L.J., Hoffman, D.J., Grove, R.A., Hatfield, J.S., 1991. Lead accumulation and osprey production near a mining site on the Coeur d'Alene River, Idaho. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21, 415–424.
- Hughes, K.D., Ewins, P.J., Clark, K.E., 1997. A comparison of mercury levels in feathers and eggs of osprey (*Pandion haliaetus*) in the North American Great Lakes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 33, 441–452.
- Hutton, M., 1981. Accumulation of heavy metals and selenium in three seabird species from the United Kingdom. *Environmental Pollution* 26, 129-145.
- Jutglar, F., Maso, A., 1999. *Aves de la Península Ibérica*. Editorial Planeta. Barcelona, España. Pp. 351-352.
- Klasing KC. 1998. *Comparative Avian Nutrition*. Cambridge University Press, UK, pp. 234-276.
- Kristine, H., Morrison, G., Lindberg, P., Rauch, S., 2004. Comparative Tissue Distribution of Metals in Birds in Sweden Using ICP-MS and Laser Ablation ICP-MS. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47, 259-269.
- Lewis SA, Furness RW. 1991. Mercury accumulation and excretion by laboratory reared black-headed gulls chicks. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 21, 316-320.
- Marnie, J., Lounsbury-Billie, Rand, M., Yong Cai, Bass, Jr., 2008. Metal concentrations in osprey (*Pandion haliaetus*) populations in the Florida Bay estuary. *Ecotoxicology* 17, 616-622.
- Martínez López, E., Martínez, J.E., María Mojica, P., Peñalver, J., Pulido, M., Calvo, J.F., García Fernández, A.J., 2004. Lead in feathers and δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in three raptor species from an unpolluted mediterranean forest (Southeastern Spain). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47, 270–275.

- Mateo, R., Estrada, J., Paquet, J.Y., Riera, X., Domínguez, L., Guitart, R., Martínez-Vilalta, A., 1999. Lead shot ingestion by marsh harriers *Circus aeruginosus* from Ebro delta, Spain. *Environmental Pollution* 104, 435–440.
- Movalli, P.A., 2000. Heavy metal and other residues in feathers of laggar falcon *Falco biarmicus jagger* from six districts of Pakistan. *Environmental Pollution* 109, 267–275.
- Naccari, C., Cristani, M., Cimino, F., Arcoraci, T., Trombetta, D., 2009. Common buzzards (*Buteo buteo*) bio-indicators of heavy metals pollution in Sicily (Italy). *Environment International* 35, 594–598.
- Newton, I., Wyllie, I., Asher, A., 1993. Long-term trends in organochlorine and mercury residues in some predatory birds in Britain. *Environmental Pollution* 79, 143–151.
- Nicholson, J.K., 1981. The comparative distribution of zinc, cadmium and mercury in selected tissues of the herring gull (*Larus argentatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. C Comp. Pharmacol. 68, 91–94.
- Niecke, M., Heid, M., Kruger, A., 1999. Correlations between melanin pigmentation and element concentration in feathers of white-tailed eagles (*Haliaeetus albicilla*). *Journal für Ornithologie* 140, 355–362.
- 1.1 Pain, D.J., Amiard Triquet, C., 1993. Lead poisoning of raptors in France and elsewhere. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 25, 183–192.
- Pain, D.J., Sears, J., Newton, I., 1995. Lead concentration in birds of prey in Britain. *Environmental Pollution* 87, 173–180.
- Parekh, P.P., Ghauri, B., Husain, L., 1989. Identification of pollution sources of anomalously enriched elements. *Atmospheric Environment* 23, 1435–1442.
- Pattee, O.H., Bloom, P.H., Scott, J.M., Smith, M.R., 1990. Lead hazards within the range of the California condor. *Condor* 92, 931–937.
- Rattner, B. A., Golden, N. H., Toschik, P.C., McGowan, P.C., Custer, T. W., 2008. Concentrations of metals in blood and feathers of nestling ospreys (*Pandion haliaetus*) in Chesapeake and Delaware Bays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 114–122.
- Redig, P.T., Duke, G.E., Schwartz, S., Lawler, E., 1983. An investigation into the effects of lead poisoning on bald eagles and other raptors: a final report. *Minn Endangered Species Program Study 200A–200B*, 1–44.
- Samuel, M.D., Bowers, E.F., Franson, J.C., 1992. Lead exposure and recovery rates of black ducks banded in Tennessee. *Journal of Wildlife Diseases* 28, 555–561.
- Scheuhammer, A.M., 1987. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury and lead in birds: a review. *Environmental Pollution* 46, 263–295.
- Scheuhammer, A.M., 1989. Monitoring wild bird populations for lead exposure. *Journal of Wildlife Management* 53(3), 759–765.
- Scheuhammer, A.M., Wilson, L.K., 1990. Effects of lead and pesticides on δ-aminolevulinic acid dehydratase of ring doves (*Streptopelia risoria*) *Environmental Toxicology and Chemistry* 9, 1379–1386.
- Servicio de calidad del aire de Madrid. Memoria anual de calidad del aire 2009. Dirección general de calidad, control y evaluación ambiental. Disponible en: <http://www.mambiente.munimadrid.es>.
- Thompson, D.R., 1990. Metal levels in marine vertebrates. In: Furness, R.W., Rainbow, P.S. (Eds.), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 143–182.

- Wayland, M., Bollinger, T., 1999. Lead exposure and poisoning in bald eagles and golden eagles in the Canadian prairie provinces. *Environmental Pollution* 104, 341-350.
- Weyers, B., Gluck, E., Stoepler, M., 1988. Investigation of the significance of heavy metal contents of blackbird feathers. *The Science of the Total Environment* 77, 61-67.