



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Facultad de Veterinaria

TESIS DOCTORAL

**Análisis toxicológico y estudio
histopatológico de las aves muertas por la
catástrofe del petrolero “Prestige”**

Percy Arturo Rodríguez Ledesma



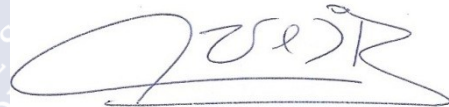


UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE VETERINARIA

**ANÁLISIS TOXICOLÓGICO Y ESTUDIO
HISTOPATOLÓGICO DE LAS AVES MUERTAS POR LA
CATÁSTROFE DEL PETROLERO “PRESTIGE”**

Trabajo original presentado para optar al grado de Doctor
por la Universidad de Santiago de Compostela

Lugo 29 de mayo de 2013



Fdo. Percy Arturo Rodríguez Ledesma

Los firmantes, directores de la presente memoria de investigación, autorizan su presentación en el organismo competente para su admisión previa a trámite de su lectura y defensa.

Vº Bº de los directores



Fdo. Ana M. Bravo del Moral



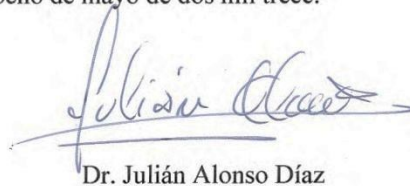
MARIA JULIA MELGAR RIOL, Profesora Titular de Universidad y **JULIÁN ALONSO DÍAZ**, Investigador Contratado Doctor, pertenecientes al Departamento de Anatomía Patológica y Ciencias Forenses (Grupo de Investigación GI-1735), Área de Conocimiento de Toxicología de la Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela (Campus de Lugo).

CERTIFICAN: que **Don Percy Arturo Rodríguez Ledesma** ha realizado bajo nuestra dirección el presente trabajo *ANÁLISIS TOXICOLÓGICO Y ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE LAS AVES MUERTAS POR LA CATÁSTROFE DEL PETROLERO "PRESTIGE"* para optar al Grado de Doctor en Veterinaria por la Universidad de Santiago de Compostela. Revisado el texto de la Memoria, estamos conformes con su presentación para ser juzgado por el Tribunal correspondiente.

Y para que así conste y surta efectos donde corresponda, expedimos el presente certificado en Lugo, a veintiocho de mayo de dos mil trece.



Dra. María Julia Melgar Riol



Dr. Julián Alonso Díaz





A mis padres, Víctor y Mirian

A mi hermana Carla

A Lucía

A Artur y a nuestro pequeñ@ que viene en camino



Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento en primer lugar a mis directores de tesis: Dra. Ana María Bravo, Dra. María Julia Melgar y Dr. Julián Alonso, por haber depositado su confianza en mí, por haberme guiado en este camino de la investigación con tanta dedicación, esfuerzo y sabiduría, mi más profundo reconocimiento, tanto profesional como humano.

A la Dra. María Ángeles García, por sus valiosos consejos y su apoyo en la realización de esta tesis.

A la Xunta de Galicia por brindar el apoyo económico en los proyectos XUGA-PGIDIT03RF026101PR e INCITE08PXIB261087PR, que financiaron un contrato temporal para la realización de la presente tesis.

Al Dr. José Luis Cascallana, por su colaboración en la realización de las necropsias de las aves y del análisis estadístico de los datos obtenidos en Anatomía Patológica.

A la Dra. Nieves Muñoz por su asesoramiento y sus aportes al tratamiento estadístico.

A Virginia Santamaría, por su colaboración en la realización de las necropsias de las aves.

A Javier Balado, veterinario del Centro de recuperación de aves en Santa Cruz de Oleiros, A Coruña, por el envío de los cadáveres de las aves tras el vertido del *Prestige*.

A la Dra. M^a José Díez Enrich, por la identificación de los parásitos digestivos.

Al Dr. Lucas Moya, por el estudio y clasificación de las tinciones de Perls.

Y para terminar, a todos los que de una u otra forma han contribuido al desarrollo de este trabajo.





Este trabajo ha sido realizado con el soporte económico de los siguientes proyectos de investigación autonómicos financiados por la XUNTA de Galicia:

XUGA-PGIDIT03RF026101PR

INCITE08PXIB261087PR



ABREVIATURAS

ABS:	<i>American Bureau of Shipping</i>
AESAN:	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
ALT:	Alanina aminotransferasa
ANOVA:	Análisis de varianza
AST:	Aspartato aminotransferasa
ATP:	Adenosín trifosfato
ATSDR:	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>
BCHE:	Butirilcolinesterasa
CAB:	Compuestos aromáticos biliares
Cedre:	<i>Centre de documentation, de recherche et d'expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux</i>
CG-FID:	Cromatografía de gases - FID, <i>Flame Ionization Detector</i> (Detector de Ionización de Llama)
CRI:	<i>Collisional Reaction Interface</i>
CSIC:	Consejo Superior de Investigaciones Científicas
DL ₅₀ :	Dosis letal 50
DOUE:	Diario Oficial de la Unión Europea
EPA:	<i>US Environmental Protection Agency</i>
FDRL:	<i>Food & Drug Research Laboratory</i>
GGT:	Gamma glutamil transpeptidasa
ICES:	<i>International Council for the Exploration of the Sea</i>
ICP-MS:	Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo (<i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i>)
IOM:	<i>Institute of Medicine</i>
M-100:	Mazut-100 (fuel)
MARPOL:	<i>Marine Pollution</i>

MTs:	Metalotioneínas
NRC:	<i>National Research Council</i>
OSHA:	<i>Occupational Safety and Health Administration</i>
PAH (HAPs):	<i>Polycyclic aromatic hydrocarbons</i> (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos)
PCB:	Policlorobifenilos
POC:	Pesticidas organoclorados
PTFE:	Politetrafluoroetileno
PTWI:	<i>Provisional tolerable weekly intake</i>
RDA:	<i>Recommended Dietary Allowance</i>
RIAIDT:	Rede de Infraestruturas de Apoio á Investigación e ao Desenvolvemento Tecnolóxico - USC
ROS:	<i>Reactive oxygen species</i>
SASEMAR:	Sociedad de Salvamento y Seguridad Marítima
SEM:	<i>Scanning electron microscope</i>
SEO/Birdlife:	Sociedad Española de Ornitología
SGO:	Sociedad Gallega de Ornitología
UE, CE:	Unión Europea, (antes: Comunidad Europea)
UL:	<i>Tolerable upper intake levels</i>
USGS:	<i>United States Geological Survey</i>
WHO:	<i>World Health Organization</i>

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
1. VERTIDOS DE PETRÓLEO O SUS DERIVADOS EN AGUAS MARINAS	4
1.1. Antecedentes de otros vertidos de petróleo o sus derivados	5
1.2. Accidente del <i>Prestige</i>	8
1.2.1. Características del petrolero	8
1.2.2. Hundimiento del <i>Prestige</i>	8
1.2.3. Lecciones y consecuencias del accidente	9
1.3. El petróleo del <i>Prestige</i> : Características físicas y químicas	9
2. REPERCUSIÓN DE LOS VERTIDOS DE PETRÓLEO EN SERES VIVOS	12
2.1. Consecuencias de los vertidos de petróleo en el ecosistema	13
2.2. Consecuencias del vertido del <i>Prestige</i> en aves marinas de Galicia	15
3. CARACTERÍSTICAS Y ECOTOXICIDAD DE LOS ELEMENTOS QUÍMICOS EVALUADOS	18
3.1. Arsénico (As)	18
3.2. Cadmio (Cd)	19
3.3. Cobalto (Co)	20
3.4. Cobre (Cu)	21
3.5. Cromo (Cr)	22
3.6. Hierro (Fe)	23
3.7. Manganeseo (Mn)	24
3.8. Mercurio (Hg)	25
3.9. Plomo (Pb)	26
3.10. Selenio (Se)	26
3.11. Vanadio (V)	27
3.12. Zinc (Zn)	28
4. ETOLOGÍA GENERAL DE LAS AVES MARINAS AFECTADAS POR EL PETRÓLEO DEL <i>PRESTIGE</i> EVALUADAS EN EL PRESENTE ESTUDIO	30
4.1. Alca común (<i>Alca torda</i>)	30
4.2. Arao común (<i>Uria aalge</i>)	32
4.3. Cormorán moñudo (<i>Phalacrocorax aristotelis</i>)	35
4.4. Alcatraz atlántico (<i>Morus bassanus</i>)	37
4.5. Gaviota patiamarilla (<i>Larus michahellis</i>)	39
4.6. Frailecillo atlántico (<i>Fratercula arctica</i>)	41
5. TOXICIDAD DEL FUEL EN AVES MARINAS	43
5.1. Efectos inmediatos externos	43
5.2. Toxicidad por la ingestión de fuel	43
5.3. Efectos a largo plazo	46
II. OBJETIVOS	49

III. MATERIAL Y MÉTODOS	53
1. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO	55
1.1. Necropsia de las aves	55
1.2. Histopatología	57
1.3. Estudio Histoquímico	58
1.4. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	58
2. DETERMINACIONES TOXICOLÓGICAS	59
2.1. Material y reactivos	59
2.1.1. Reactivos	59
2.1.2. Equipos instrumentales	59
2.1.3. Muestras	59
2.2. Métodos analíticos	60
2.2.1. Preparación de las muestras	60
2.2.2. Digestión de las muestras por microondas	60
2.2.3. Determinación de los metales por ICP-MS	62
2.2.4. Control de calidad del método	62
2.2.5. Evaluación de resultados	65
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	65
3.1. Clasificación epidemiológica del presente estudio	65
3.2. Tratamiento estadístico de los datos anatomopatológicos y toxicológicos	66
3.3. Variables utilizadas en el análisis estadístico de los datos obtenidos	67
3.3.1. Variables categóricas	67
3.3.2. Variables numéricas	67
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-ANATOMÍA PATOLÓGICA	71
1. INSPECCIÓN EXTERNA	73
1.1. Determinación de la especie y el sexo de las aves	73
1.2. Impregnación de las aves por petróleo	74
2. LESIONES OBSERVADAS EN LA INSPECCIÓN INTERNA	79
2.1. Lesiones observadas tras el desollado	79
2.2. Lesiones en las cavidades corporales	79
2.3. Lesiones en órganos internos	83
2.3.1. Bazo	83
2.3.2. Hígado	83
2.3.3. Aparato respiratorio	85
2.3.4. Aparato digestivo	86
2.4. Parasitación digestiva en las aves objeto de estudio	93
2.5. Sistema urinario	100
2.6. Sistema reproductivo	101
2.7. Sistema nervioso central	103
3. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	104
3.1. Hemosiderosis	104
3.2. Necrosis hepática y renal	108
3.3. Ausencia de lesiones digestivas específicas asociadas al fuel	112
3.4. Lesiones asociadas a la presencia de parásitos digestivos	113
3.5. Otras parasitaciones	117
3.6. Otras lesiones no relacionadas con la intoxicación por fuel	118

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN-TOXICOLOGÍA	121
1. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS QUÍMICOS ESTUDIADOS EN FUEL Y EN AVES MARINAS	123
1.1. Relación entre las concentraciones de elementos químicos determinadas en fuel y en aves marinas	124
1.2. Relación entre las concentraciones de los elementos químicos determinadas en hígado y riñón de aves marinas	125
2. ELEMENTOS QUÍMICOS EVALUADOS	128
2.1. Micronutrientes	128
2.1.1. Cobalto	128
2.1.2. Cobre	128
2.1.3. Hierro	129
2.1.4. Manganeso	130
2.1.5. Selenio	130
2.1.6. Zinc	130
2.2. Elementos tóxicos	131
2.2.1. Arsénico	131
2.2.2. Plomo	132
2.2.3. Cadmio	134
2.2.4. Cromo	135
2.2.5. Mercurio	136
2.2.6. Vanadio	137
3. CORRELACIONES ENTRE LOS ELEMENTOS QUÍMICOS ESTUDIADOS	138
3.1. Correlaciones entre los metales pesados y metaloides estudiados en hígado	138
3.2. Correlaciones entre los metales pesados y metaloides estudiados en riñón	138
3.3. Correlaciones entre los metales pesados y metaloides estudiados en hígado y riñón	139
4. NIVELES DE ELEMENTOS QUÍMICOS HALLADOS EN AVES MARINAS POR ESPECIES	142
4.1. Alca común (<i>Alca torda</i>)	150
4.2. Arao común (<i>Uria aalge</i>)	151
4.3. Cormorán moñudo (<i>Phalacrocorax aristotelis</i>)	153
4.4. Alcatraz atlántico (<i>Morus bassanus</i>)	154
4.5. Gaviota patiamarilla (<i>Larus michahellis</i>)	155
4.6. Frailecillo (<i>Fratercula arctica</i>)	156
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN AVES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE FUEL EN EL APARATO DIGESTIVO	157
6. ESTUDIO DE METALES PESADOS CON RESPECTO A LA FECHA DE RECOGIDA DE LAS AVES MARINAS	163
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO SEGÚN EL SEXO DE LAS AVES MARINAS.	172
8. NIVELES DE ELEMENTOS INORGÁNICOS ESTUDIADOS EN AVES MARINAS Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA Y AUSENCIA DE PARÁSITOS	178

9. ANÁLISIS TOXICOLÓGICO EN RELACIÓN CON EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	184
9.1. Relación entre el estudio toxicológico y el estudio histopatológico en hígado.	184
9.2. Relación entre el estudio toxicológico y el estudio histopatológico en riñón.	192
VI. CONCLUSIONES	199
VII. BIBLIOGRAFÍA	203
VIII. ANEXO	227



INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

Figura 1. Infografía de la tragedia del <i>Prestige</i>	3
Figura 2. Principales rutas de transporte de petróleo	5
Figura 3. Mapa de los vertidos de petróleo más importantes (1965-2002).....	7
Figura 4. Vertidos de petróleo en el Atlántico Norte Europeo.....	7
Figura 5. Gráfico temporal de aves recogidas en las costas gallegas.....	16
Figura 6. Alca común (<i>Alca torda</i>).....	30
Figura 7. Arao común (<i>Uria aalge</i>).....	32
Figura 8. Distribución del arao en la Península Ibérica	33
Figura 9. Dinámica poblacional del arao en Galicia	34
Figura 10. Cormorán moñudo (<i>Phalacrocorax aristotelis</i>).....	35
Figura 11. Alcatraz atlántico (<i>Morus bassanus</i>).....	37
Figura 12. Gaviota patiamarilla (<i>Larus michahellis</i>).....	39
Figura 13. Frailecillo atlántico (<i>Fratercula arctica</i>).....	41
Figura 14. Aves marinas afectadas por el fuel del petrolero <i>Prestige</i>	55
Figura 15. Inspección externa de un ave marina afectada por el petróleo	56
Figura 16. Equipo de Microondas.....	61
Figura 17. Espectrómetro ICP-MS.....	62
Figura 18. Impregnación de fuel en aves	74
Figura 19. Relación entre especies estudiadas y el tipo de impregnación externa de fuel.....	75
Figura 20. Hemorragia subcutánea en alca común.....	76
Figura 21. Lesiones observadas tras el desollado.....	79
Figura 22. Condición corporal de las aves	80
Figura 23. Aerosaculitis y perihepatitis en alca común.....	82
Figura 24. Aerosaculitis fibrinoso purulenta en un arao asociada a enteritis.....	82
Figura 25. Dos casos de esplenomegalia en gaviotas.....	83
Figura 26. Coloración pálida del hígado	83
Figura 27. Hígado de arao con pseudomelanosis.....	84
Figura 28. Necrosis hepática en una gaviota.....	84
Figura 29. Alca común mostrando impregnación de petróleo	85
Figura 30. Cuadro hemorrágico generalizado en gaviota.....	85
Figura 31. Aparato digestivo de aves marinas abierto longitudinalmente	86
Figura 32. Aparato digestivo de <i>Alca torda</i> mostrando la presencia de restos de petróleo.....	86
Figura 33. Aparato digestivo de gaviotas abierto longitudinalmente.....	87
Figura 34. Aparato digestivo de alcas	87
Figura 35. Restos de fuel en todo el aparato	88
Figura 36. Presencia o ausencia de fuel en el tubo digestivo según la especie.....	88
Figura 37. Relación entre la impregnación externa de fuel y el contenido de fuel en el aparato digestivo.....	91
Figura 38. Hemorragias difusas en el proventrículo y en la molleja.....	92
Figura 39. Nematodosis intestinal.....	93
Figura 40. Nematodosis intestinal.....	94
Figura 41. Parasitosis intestinal por especie de ave	95

Figura 42. Ejemplares adultos de <i>Contraeaecum rudolphii</i>	96
Figura 43. Rasgos morfológicos identificativos de <i>Contraeaecum sp</i>	96
Figura 44. Identificación ultraestructural de <i>Contraeaecum</i>	97
Figura 45. Ciclo biológico de <i>Contraeaecum rudolphii</i>	99
Figura 46. Lesiones macroscópicas del aparato urinario.....	101
Figura 47. Depósitos blanquecinos de uratos en ambos riñones en un arao.....	101
Figura 48. Especies de aves divididas por sexos.....	102
Figura 49. Cerebro y cerebelo de un alca.....	103
Figura 50. Hemosiderosis esplénica en un alca.....	104
Figura 51. Hemosiderosis hepática.....	105
Figura 52. Hemosiderosis renal.....	106
Figura 53. Necrosis hepática multifocal.....	108
Figura 54. Necrosis hepática subcapsular en un alca.....	109
Figura 55. Necrosis tubular renal.....	109
Figura 56. Gráfico de evolución de las lesiones histopatológicas.....	111
Figura 57. Ausencia de lesiones específicas en tubo digestivo por la presencia de fuel.....	113
Figura 58. Larva juvenil de nematodo invadiendo la mucosa del proventrículo.....	114
Figura 59. Lesiones leves frente a la presencia de nematodos en el proventrículo.....	114
Figura 60. Invasión del proventrículo por los nematodos.....	115
Figura 61. Bacterias asociadas a la parasitación digestiva por nematodos.....	115
Figura 62. Aspecto microscópico de las úlceras de proventrículo.....	116
Figura 63. Parasitación digestiva por <i>Tetrameres sp.</i>	117
Figura 64. Trematodo marino <i>Renicola roscovita</i>	117
Figura 65. Neumonía congestivo-hemorrágica por <i>Aspergillus sp.</i>	118
Figura 66. Arteriosclerosis.....	119
Figura 67. Esclerosis glomerular.....	120
Figura 68. Enfermedad del músculo blanco.....	120
Figura 69. Transformación de datos de As en hígado y riñón de aves marinas.....	124
Figura 70. Representación gráficas de las concentraciones de los elementos químicos en hígado y riñón de las aves respecto a la concentración en fuel.....	126
Figura 71. Representaciones gráficas de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas.....	147
Figura 72. Representaciones gráficas de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas con presencia y ausencia de fuel en aparato digestivo.....	159
Figura 73. Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados por quincenas.....	167
Figura 74. Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos estudiados en aves marinas de acuerdo con el sexo.....	174
Figura 75. Representaciones gráficas de los niveles de elementos químicos con respecto a la presencia o ausencia de parásitos.....	180
Figura 76. Representaciones gráficas de medias de las concentraciones de elementos químicos en relación con la presencia o ausencia de necrosis hepática.....	186
Figura 77. Representaciones gráficas de las concentraciones medias de elementos químicos estudiados respecto a de tinción de Perls en hígado.....	190
Figura 78. Representaciones gráficas de medias de las concentraciones de elementos químicos en presencia o ausencia de necrosis tubular renal.....	194

TABLAS

Tabla 1. Vertidos de petróleo más importantes en el período 1967-2010.....	6
Tabla 2. Especies de aves marinas afectadas por el vertido del <i>Prestige</i>	17
Tabla 3. Muestras de especies y órganos para el análisis toxicológico.....	60
Tabla 4. Protocolo de proceso de digestión por microondas.....	61
Tabla 5. Límites de detección de los elementos químicos estudiados	63
Tabla 6. Nivel mínimo detectado de los elementos químicos evaluados	63
Tabla 7. Coeficiente de variación (%).....	64
Tabla 8. Control de calidad del método	64
Tabla 9. Variables utilizadas para el análisis estadístico.....	68
Tabla 10. Especies y sexo de las aves marinas analizadas.....	73
Tabla 11. Presencia y grado de hemosiderosis observada en hígado y riñón según la especie.....	106
Tabla 12. Estudio de las aves petroleadas con necrosis hepática y tinción de Perls positiva en hígado y riñón.....	110
Tabla 13. Concentración de elementos químicos en el fuel del <i>Prestige</i>	123
Tabla 14. Parámetros estadísticos de los elementos químicos analizados en hígado y riñón de aves marinas.....	123
Tabla 15. Prueba de <i>t-student</i> de una sola muestra para la comparación de los niveles de los elementos químicos obtenidos en fuel, y en hígado y riñón	125
Tabla 16. Comparación de las concentraciones de elementos químicos en hígado y riñón de un mismo individuo.....	125
Tabla 17. Correlaciones entre las concentraciones de los elementos químicos analizados en hígado	138
Tabla 18. Correlaciones entre las concentraciones de los elementos químicos analizados en riñón.....	139
Tabla 19. Correlaciones entre las concentraciones de los elementos químicos analizados en hígado y riñón	139
Tabla 20. Tabla de contingencia entre especie y sexo de las aves.....	142
Tabla 21. Tabla de contingencia entre especies divididas en cuatro categorías y el sexo de las aves marinas.....	142
Tabla 22. Concentraciones y parámetros estadísticos de los oligoelementos químicos estudiados en hígado y riñón.....	143
Tabla 23. Concentraciones y parámetros estadísticos de los elementos químicos tóxicos estudiados en hígado y riñón.....	144
Tabla 24. Comparación de las concentraciones y parámetros estadísticos de los elementos químicos por especie.....	145
Tabla 25. Especies de aves marinas afectadas por el petrolero <i>Prestige</i> , agrupadas de acuerdo con la presencia o ausencia (control) de fuel en el aparato digestivo.....	157
Tabla 26. Concentraciones medias de los elementos químicos estudiados en hígado de aves que ingirieron petróleo y en aves control.....	157
Tabla 27. Concentraciones medias de los elementos químicos estudiados en riñón de aves que ingirieron petróleo y en aves control.....	157

Tabla 28. Resultados de la comparación en hígado de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados en aves que ingirieron petróleo y en aves control.....	158
Tabla 29. Resultados de la comparación en riñón de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados en aves que ingirieron petróleo y en aves control.....	158
Tabla 30. Tabla de contingencia que muestra el número de aves recolectadas por quincenas entre diciembre de 2002 y febrero de 2003.	163
Tabla 31. Concentraciones de elementos químicos en hígado de acuerdo con la fecha de recepción de las aves marinas muertas.	164
Tabla 32. Concentraciones de elementos químicos en riñón de acuerdo con la fecha de recepción de las aves marinas muertas.	165
Tabla 33. Análisis estadístico de las concentraciones de elementos químicos en hígado y riñón de las diferentes especies de aves marinas.	166
Tabla 34. Aves marinas estudiadas de acuerdo con la especie y el sexo.	172
Tabla 35. Concentraciones de los elementos químicos evaluados en hígado de acuerdo con el sexo.	172
Tabla 36. Concentraciones de los elementos químicos evaluados en riñón de acuerdo con el sexo.	172
Tabla 37. Análisis estadístico de los niveles de elementos químicos evaluados de acuerdo con el sexo de las aves, en hígado y riñón.	173
Tabla 38. Especies de aves y parasitación interna.....	178
Tabla 39. Concentraciones de los elementos químicos evaluados en hígado de acuerdo con la presencia o ausencia de parásitos.....	178
Tabla 40. Concentraciones de los elementos químicos evaluados en riñón de acuerdo con la presencia o ausencia de parásitos.....	179
Tabla 41. Comparación entre los niveles de elementos químicos estudiados en <i>Alca torda</i> de acuerdo con la presencia o ausencia de parásitos.....	179
Tabla 42. Aves marinas con necrosis hepática.....	184
Tabla 43. Concentraciones de los elementos químicos obtenidos en las aves con y sin necrosis hepática.....	184
Tabla 44. Prueba estadística para la comparación entre los grupos de aves con presencia y ausencia de necrosis hepática.	185
Tabla 45. Tabla de contingencia que muestra la frecuencia de aves de acuerdo con los grados de tinción de Perls de los cortes histológicos de hígado.	188
Tabla 46. Concentraciones de los elementos químicos estudiados de acuerdo con el grado de tinción de Perls observada en hígado.	189
Tabla 47. Pruebas estadísticas de comparación que evalúan las diferencias entre los niveles de tinción de Perls en hígado.	189
Tabla 48. Aves marinas con necrosis tubular renal.....	192
Tabla 49. Concentraciones de los elementos químicos obtenidos en las aves con y sin necrosis tubular renal.....	192
Tabla 50. Prueba estadística para la comparación entre los grupos de aves con presencia y ausencia de necrosis tubular renal.	193
Tabla 51. Tabla de contingencia que muestra la frecuencia de aves de acuerdo con los grados de tinción de Perls de los cortes histológicos de riñón.	196
Tabla 52. Concentraciones de los elementos químicos estudiados de acuerdo con el grado de tinción de Perls observada en riñón.....	196

Tabla 53. Concentraciones de arsénico en otros estudios.	229
Tabla 54. Concentraciones de cadmio en otros estudios.	230
Tabla 55. Concentraciones de cobalto en otros estudios.	233
Tabla 56. Concentraciones de cobre en otros estudios.	234
Tabla 57. Concentraciones de cromo en otros estudios.	236
Tabla 58. Concentraciones de hierro en otros estudios.	237
Tabla 59. Concentraciones de manganeso en otros estudios.	238
Tabla 60. Concentraciones de mercurio en otros estudios.	239
Tabla 61. Concentraciones de plomo en otros estudios.	241
Tabla 62. Concentraciones de selenio en otros estudios.	243
Tabla 63. Concentraciones de vanadio en otros estudios.	244
Tabla 64. Concentraciones de zinc en otros estudios.	245







I. INTRODUCCIÓN



El 13 de noviembre de 2002 el petrolero monocasco *Prestige*, con bandera de Bahamas, procedente de Letonia y previamente de San Petersburgo, con destino de transición a Gibraltar, sufrió una vía de agua en dos tanques de estribor, comenzó a zozobrar y, seis días después, se hundió a más de 3000 metros en el fondo del mar, frente a las costas gallegas, con 77 000 toneladas de fuel en su interior, provocando la mayor tragedia ecológica de las costas españolas (Figura 1).



Figura 1. Infografía de la tragedia del *Prestige* (Extraído de Wikipedia-CC).

Este hundimiento ha supuesto la tercera gran marea negra vivida en Galicia, después del *Urquiola* en 1976 y del *Aegean Sea* en 1992. Es, al mismo tiempo, la tercera marea negra de fuel pesado en aguas europeas en menos de cuatro años, después del vertido del *Erika* en 1999 y del *Baltic Carrier* en 2001 (CEDRE, 2012). El vertido de más de 64 000 toneladas de fuel del *Prestige* condujo a una catástrofe ecológica sin precedentes en España que repercutió en el equilibrio del ecosistema y en su biodiversidad, sobre todo de las aves marinas (García *et al.*, 2003).

Según los datos del Informe Global de la SEO/BirdLife sobre el impacto del *Prestige* en las costas gallegas, se recogieron un total de 23 181 aves (6 120 vivas y 17 061 muertas), lo que supone un 53% del total de aves marinas afectadas por el vertido en la Comunidad Autónoma de Galicia, siendo A Coruña la provincia con la mayor tasa de aves recogidas (34% del total). Por especies, la más afectada fue el arao común (51%), seguido del alca común y del frailecillo atlántico con un 17% en ambos casos.

La carga del *Prestige* consistía en fuel pesado de mala calidad, denominado M-100. Este es un producto residual de la destilación del petróleo, sometido a tratamiento térmico (*visbreaking*) y

mezclado con algún destilado ligero (*cutre stock*). Es pues, un fuel altamente contaminante que sobrepasaba los niveles permitidos por las directivas comunitarias, debido a su alto porcentaje de metales pesados (CSIC, 2003a).

La Unión Europea (UE) importa habitualmente grandes cantidades de crudo, que suponen un movimiento anual de aproximadamente 229.5 millones de toneladas en el área de Europa. El 90% de este petróleo importado llega a través del transporte marítimo, pasando buena parte de él por las costas gallegas. Esta situación explica por qué, a lo largo de la historia, las costas gallegas se han visto afectadas por varios vertidos como los del *Polycomander*, *Andros Patria*, *Urquiola*, *Eagean Sea* y *Prestige* (Maneiro, 2003).

1. VERTIDOS DE PETRÓLEO O SUS DERIVADOS EN AGUAS MARINAS

En 1970, la expedición Ra-II¹ descubrió que de los 57 días que duró el recorrido, en 43 de ellos el mar estaba visiblemente contaminado con trozos de petróleo solidificado, aceite y otros desechos (Cousillas, 1997). Esta contaminación es de tal magnitud que se calcula que, alrededor de 1 500 millones de toneladas de petróleo al año son transportadas a través de los mares, originándose dichos vertidos de forma accidental o deliberada. De hecho, se estima que durante el proceso de carga y descarga se pierde el 0.1% del petróleo trasvasado. También, la práctica de los buques petroleros de limpieza de sus tanques de almacenamiento en el mar (sentinazos), elimina alrededor de 3.5 millones de toneladas de petróleo al año que, sumadas a las fugas de las perforaciones y tuberías subacuáticas, representa una contaminación marina considerable (Celis, 2009).

Algunos investigadores consideran que los accidentes de los buques tanque y las fugas en equipos de perforación serían responsables tan solo del 50% del petróleo encontrado en el océano, y que la otra mitad provendría de tierra firme. Según los estudios realizados en las costas de Galicia, desde 1960 hasta el año 2003 se han registrado 377 765 toneladas de vertidos de petróleo o sus derivados (Cousillas, 1997; Laffon, 2003). En los últimos años el tamaño y número de vertidos debido a accidentes de petroleros ha disminuido considerablemente, sin embargo los derrames provocados por los conductos de transporte de petróleo han aumentado, debido al envejecimiento, falta de mantenimiento o sabotaje. Lugares como el Ártico ruso, el Delta del Níger o la Amazonía nor-occidental son lugares recurrentes, pero no se tienen estadísticas precisas; además las actuales búsquedas y explotación de petróleo en plataformas marinas hacen que pueda haber desastres ecológicos como los observados en el golfo de México en 2010 (Jernelov, 2010).

¹ Expedición realizada por Thor Heyerdahl que cruzó el océano Atlántico en una embarcación de papiro para demostrar que los egipcios pudieron llegar a América.

Por todo esto, la industria del petróleo debe ser responsable y asumir las consecuencias de los vertidos, para lo cual debe existir un compromiso político conjunto de la Unión Europea para regular su funcionamiento y los posibles efectos de los accidentes y vertidos (**García Pérez, 2003**); de hecho, en Bélgica ya se han llevado a cabo protocolos de vigilancia de las embarcaciones que arrojan petróleo al mar, maniobra prohibida por la convención de MARPOL 73/78 (1983) y por el acuerdo de Bonn (1969/1983); los esfuerzos realizados por estos servicios de vigilancia en los últimos 20 años (1991-2011) han dado buenos resultados (**Camphuysen, 2010; Lagring et al., 2012**).

1.1. Antecedentes de otros vertidos de petróleo o sus derivados

La dependencia del petróleo como insumo para el desarrollo industrial, hace que la industria petrolera sea una de las actividades más importantes del mundo; su transporte se lleva a cabo a nivel mundial desde las zonas productoras de crudo localizadas mayoritariamente en Oriente Medio, hasta las zonas que lo demandan (Figura 2), siendo sus mayores consumidores los Estados Unidos de América y la Unión Europea (**Sotelo Navalporto, 2003; UE, 2000**).

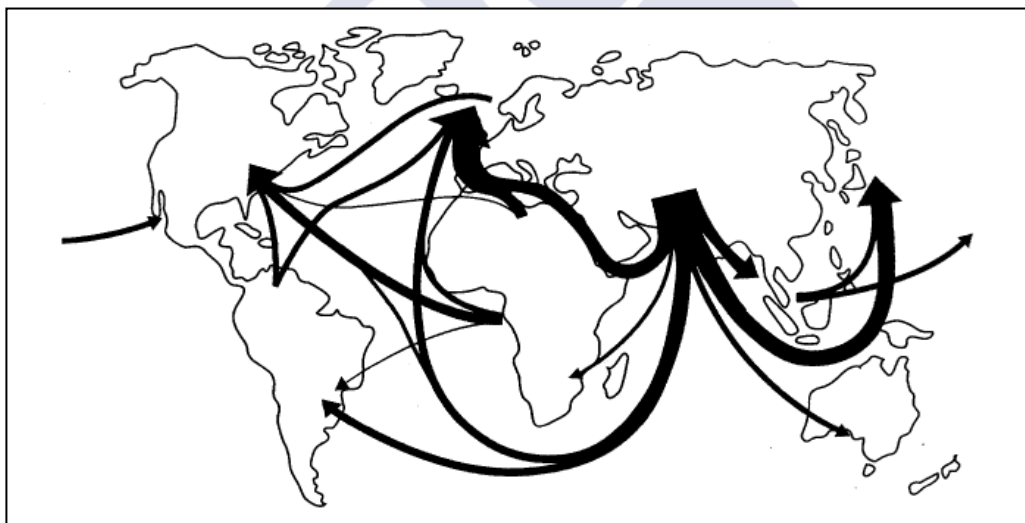


Figura 2. Principales rutas de transporte de petróleo (Extraído de UE, 2000).

Durante el transporte de estas sustancias se pueden producir fugas de petróleo en las embarcaciones, o bien accidentes en las plataformas de extracción o en los petroleros; en la Tabla 1, se recoge la lista de algunos de los mayores vertidos de petróleo ocurridos desde 1967 hasta 2010, junto con las circunstancias del suceso, la cantidad de petróleo derramado y, en algunos casos, las víctimas humanas asociadas al mismo.

Tabla 1. Vertidos de petróleo más importantes en el período 1967-2010.

Fecha	Lugar	Cantidad de petróleo Víctimas humanas	Nombre del buque Descripción
18/03/1967	Cornwall, Inglaterra	38 millones de galones de crudo	Scilly Islands,
15/12/1976	Buzzards Bay, EEUU	7.7 millones de galones de fuel	Argo Merchant
04/1977	Mar del Norte	81 millones de galones	Ekofisk
16/03/1978	Portsall, Francia	68 millones de galones	Amoco Cádiz, daño a lo largo de 100 millas de costa británica
03/06//1979	Golfo de México	140 millones de galones	Ixtoc 1, bajo impacto ambiental
19/07/1979	Tobago	87 millones de crudo en total	Atlantic Empress y Aegean Captain colisionaron
30/03/1980	Stavagner, Noruega	123 trabajadores muertos	El hotel flotante en el Mar del Norte colapsó
04/02/1983	Golfo Pérsico, Irán	80 millones de galones	Nowruzfield
06/08/1983	Cape Town, Sudáfrica	78 millones de galones	Buque Castillo de Bellver
06/07/1988	Mar del Norte, Escocia	166 trabajadores muertos	
10/11/1988	Saint John, Newfoundland	45 millones de galones de petróleo	Odyssey
24/03/1989	Prince William Sound, Alaska	10 millones de galones	Exxon Valdez
19/12/1989	Las Palmas, Islas Canarias	19 millones de galones	Explosión del supertanque Kharg-5
08/06/1990	Galveston, Texas	5.1 millones de galones	Mega Borg
23-27/01/1991	Kuwait	240-460 millones de galones de crudo en el golfo	Iraq deliberadamente liberó petróleo a 10 millas de Kuwait
11/04/1991	Génova , Italia	42 millones de galones	Haven
28/05/1991	Angola	15-78 millones de galones	No hay datos claros de este accidente
02/03/1992	Fergana Valley, Uzbekistan	88 millones de galones de petróleo	
10/08/1993	Tampa Bay, Florida	336 mil galones	Tres embarcaciones colisionaron
08/09/1994	Rusia	2 millones de barriles	El gobierno ruso dice que sólo fueron 102 mil barriles
15/02/1996	Welshcoast	70 toneladas de crudo	
12/12/1999	Costa atlántica francesa	3 millones de galones	Erika
18/01/2000	Río de Janeiro	343.200 galones	Rotura de tubería Petrobras
28/11/2000	Río Missisipi, New Orleans	567.000 galones	
13/11/2002	Galicia, España	20 millones de galones	Prestige
28/07/2003	Pakistán	28 mil toneladas de crudo	Tasman Spirit
07/12/2004	Aleutian Islands, Alaska	337 mil galones de petróleo	Selendang Ayu
08-09/ 2005	New Orleans	7 millones de galones	Huracán Katrina
19/06/2006	Calcasieu River, Louisiana	71 mil barriles de basura	CITGO, durante tormenta
15/07/2006	Beirut, Libano	3-10 millones de galones	100 millas de costa marina afectada por ataque israelí
11/08/2006	Islas Guimarás, Filipinas	530 mil galones	
07/12/2007	Corea del Sur	2.8 millones de galones	
25/07/2008	New Orleans	419 mil galones	
11/03/2009	Queensland, Australia	52 mil galones de petróleo pesado y 620 toneladas de nitrato amónico	
23/01/2010	Port Arthur, Texas	462 mil galones de crudo	
24/04/2010	Golfo de México	Cifra aún por calcular 11 personas muertas.	BP

En la Figura 3, elaborada por la Administración Nacional Oceánica y de la Atmósfera del Departamento de Comercio de Estados Unidos (NOAA), se observa, en diferentes tonalidades de gris, la cantidad de toneladas de petróleo derramado por kilómetro cuadrado en los vertidos de petróleo más importantes entre los años 1965 y 2002, a nivel mundial (Vieites *et al.*, 2004).

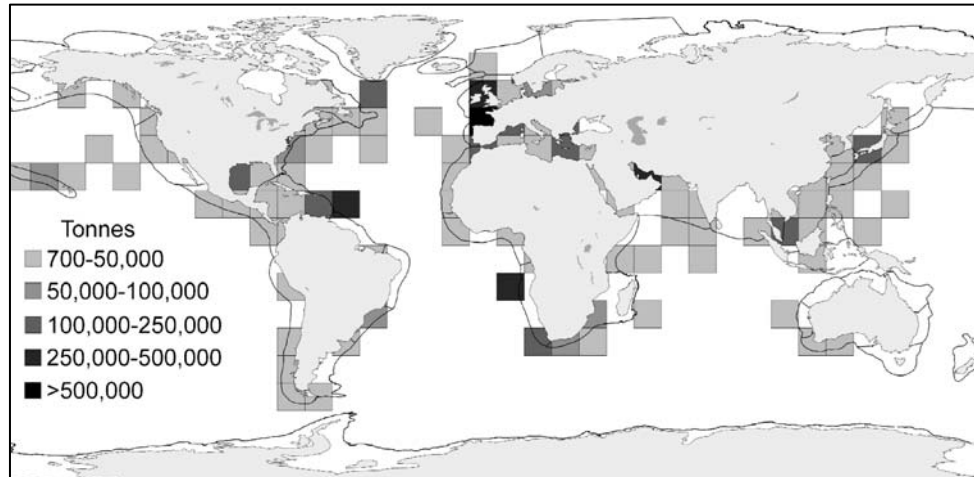


Figura 3. Mapa de los vertidos de petróleo más importantes (1965-2002).

Asimismo, cabe destacar que la zona de mayores desastres ecológicos causados por el petróleo se localiza en el Atlántico Norte Europeo, siendo el canal de Inglaterra y las costas de Galicia las zonas más afectadas dentro de este (Vieites *et al.*, 2004).

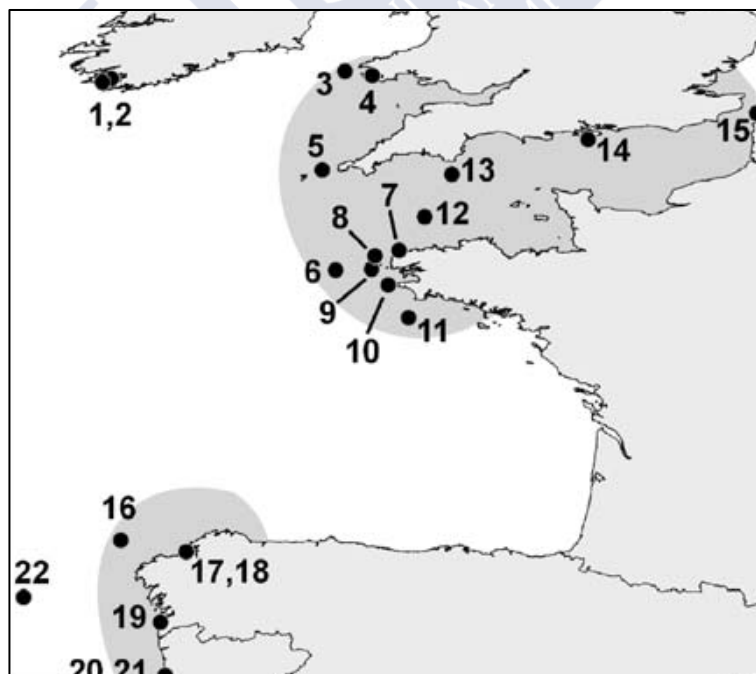


Figura 4. Vertidos de petróleo en el Atlántico Norte Europeo.

En la Figura 4² se puede apreciar la distribución de los principales vertidos de petróleo en aguas de las costas atlánticas europeas; el canal inglés y las aguas de Galicia (en gris oscuro) concentran la mayoría de los accidentes. El número indica el navío y entre paréntesis la cantidad expresada en miles de toneladas: 1 *Betelgeuse* (44); 2 *Universe Leader* (2.2); 3 *Christos Bitas* (3.7); *Sea Empress* (74.4); 5 *Torrey Canyon* (119); 6 *Gino* (41.8); 7 *Amocco Cádiz* (233); 8 *Olympic Bravery* (0.7); 9 *Bohlen* (7); 10 *Amazzone* (2); 11 *Erika* (19.7); 12 *Tanio* (17); 13 *Mt Rose Bay* (1); 14 *Pacific Glory* (3); 15 *Olympic Alliance* (11.8); 16 *Andros Patria* (47); 17 *Urquiola* (100); 18 *Aegen sea* (74); 19 *Polycommander* (16); *Jakob Maersk* (86,7); 21 *Cercal* (1); 22 *Prestige* (60).

1.2. Accidente del *Prestige*

1.2.1. Características del petrolero

El *Prestige* era un petrolero convencional de casco sencillo, con un peso muerto de 81 564 toneladas, construido en el año 1976 por *Hitachi Shipbuilding & Engineering Co.* de Japón. Cuando partió de Riga (Letonia), el buque llevaba a bordo 76 973 toneladas de fuel pesado (M-100).

Según el ABS (*American Bureau of Shipping*), la posible causa iniciadora de la avería del *Prestige* pudo ser algún impacto con alguna estructura sólida en el mar, ya que se constató que al menos 3 buques perdieron parte de su carga en fechas previas al accidente. También pudo existir un fallo estructural que causó la inundación de los tanques del buque (Montes, 2006).

1.2.2. Hundimiento del *Prestige*

Después de la avería del petrolero, el capitán realizó maniobras para adrizar³ el buque, sin embargo el agua que inundaba el petrolero desestabilizaba el mismo; a partir de ese momento realizó maniobras erráticas, acercándose a la Ensenada de Finisterre; posteriormente se enmendó el rumbo hacia el Nordeste (NE), quizás con la intención de llevarlo al puerto de A Coruña, pero cuando estaba tan sólo a unas 3 ó 5 millas de la costa de Muxía, se le ordenó que se alejara de la costa de forma inmediata; el SASEMAR (Sociedad de Salvamento y Seguridad Marítima) y la Xunta de Galicia desalojaron a todos los tripulantes del buque, no registrándose pérdidas humanas en dicha operación.

El *Prestige* se alejó finalmente de la costa de Muxía siguiendo rumbo Nor-noroeste (NNW) primero, para cambiar más tarde a Noroeste (NW). Llegó un momento en que cambió a rumbo Sudoeste (SW), quizás porque las autoridades francesas alertaron a las españolas de que si el viento reinante en ese momento (del Sur) rolaba a Oeste y después al Noroeste, los derrames que el

² Elaborada por la Administración Nacional Oceánica y de la Atmósfera del Departamento de Comercio de Estados Unidos (NOAA).

³Mar. Poner derecho o vertical lo que está inclinado, y especialmente la nave.

Prestige fuera dejando, terminarían llegando a sus costas. Más tarde cambió a un rumbo casi al Sur, quizás con la intención de buscar abrigo en algún lugar de Portugal. Pero finalmente, cambió de nuevo al Oeste-sudoeste (WSW), pues al parecer se había llegado a un acuerdo para conducirlo a las Islas de Cabo Verde. Nunca alcanzó ese destino pues a las 08:00 horas del día 19 de noviembre de 2002 se partió en dos y, finalmente, se hundió en el Atlántico a casi 4 000 metros de profundidad (Montes, 2006). Posteriormente, y hasta la semana del 25 al 30 de noviembre de 2002, la marea negra llegó a las costas de Galicia, Asturias, Cantabria, Santander y País Vasco (Álvarez-Salgado *et al.*, 2006).

1.2.3. Lecciones y consecuencias del accidente

El accidente del *Prestige* permitió realizar diversos estudios que simulan el comportamiento del petróleo en accidentes marinos, observando las influencias que tienen las corrientes marinas y la temperatura del mar, dando lugar al sistema METEOMOHID (Carracedo *et al.*, 2006). También se realizaron modelos de simulación de recorrido del fuel en aguas marinas y se llevaron a cabo estudios de riesgo para la evaluación de las consecuencias (Montero *et al.*, 2003; Solana-Ortega and Solana, 2007).

Este accidente dejó un saldo económico, social, sanitario y ecológico enormemente negativo (Bohannon *et al.*, 2002; Montes, 2006), estimándose que hasta diciembre de 2003 la industria pesquera de Galicia perdió alrededor de 76 millones de euros (Suris-Regueiro *et al.*, 2007), afectando principalmente a la zona de la Costa da Morte. Sin embargo, aún están haciéndose estudios para medir con precisión los efectos del vertido, ya que se observó una disminución de la cantidad total de peces capturados y también una alteración de la diversidad de especies, disminuyendo unas variedades y aumentando otras (García Negro *et al.*, 2009).

1.3. El petróleo del *Prestige*: Características físicas y químicas

El petróleo es el resultado de una mezcla muy compleja de sustancias. La composición de cada tipo de fuel es muy diferente en función de la fuente natural de donde se extrae, así como de los tratamientos industriales que se aplican para su obtención. La carga del *Prestige* estaba constituida por un fuel pesado de mala calidad, procedente de la antigua URSS, que se corresponde con un fuel nº 2 en la escala francesa y un fuel nº 6 (o también *bunker oil C*) o tipo M-100 en la denominación inglesa e internacional. Se trata de un producto muy viscoso, inmisible en agua, con un olor típico a petróleo (CSIC, 2003a).

Entre las sustancias más nocivas que se encuentra en el petróleo están los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs o PAH's, por sus siglas en inglés). Son compuestos químicos cuya estructura contiene anillos aromáticos simples que se han unido, sin heteroátomos ni sustituyentes.

Los HAPs se encuentran en el petróleo, el carbón y en depósitos de alquitrán y también, como subproductos de la utilización de combustibles (ya sean fósiles o biomasa). Como contaminantes han despertado gran preocupación debido a que algunos compuestos han sido identificados como carcinógenos, mutágenos y teratógenos, siendo perjudiciales para poblaciones silvestres de aves (Poppenga, 2007).

Como consecuencia del accidente del *Prestige*, se evaluaron los niveles de HAPs en agua en el mes de diciembre de 2002 estando comprendidos entre 19 y 28 µg/L. Estas concentraciones no fueron tan elevadas como las registradas en accidentes como el *Exxon Valdez* debido a la naturaleza pesada del petróleo del *Prestige*; los naftalenos y alquil-naftalenos fueron los HAPs más predominantes. Sin embargo, los muestreos realizados tres meses después muestran un descenso de hasta el 50% de los HAPs, siendo útiles en el diagnóstico de contaminación por petróleo del agua y pudiendo ver el recorrido del petróleo en el mar (González *et al.*, 2006).

También se evaluaron los niveles de HAPs en la biota afectada por el *Prestige*, observándose en la Costa de la Muerte niveles más elevados (Franco *et al.*, 2006). Estudios de poblaciones de gaviotas expuestas y no expuestas al petrolero *Prestige*, demuestran que las mediciones de HAPs en aves expuestas variaba con respecto a las no expuestas, asimismo, diversos parámetros bioquímicos como AST, GGT, glucosa y fósforo inorgánico muestran una alteración de los órganos vitales como hígado y riñón, obteniéndose los mismos resultados de forma experimental (Alonso-Álvarez *et al.*, 2007a; Alonso-Álvarez *et al.*, 2007b).

Otros elementos tóxicos que afectan a las aves son los PCBs y pesticidas organoclorados, en estudios realizados con huevos de la gaviota de Audouin (*Larus audouinii*) mostraron que existe una correlación temporal en los niveles de estos xenobióticos debido a contaminación antropogénica (Goutner *et al.*, 2001).

El fuel M-100 es un producto residual de la destilación del petróleo, sometido a tratamiento térmico (*visbreaking*) y mezclado posterior con sustancias de destilación más ligeras (*cutter stock*) para reducir su viscosidad; de este modo se convierte en un residuo peligroso por la elevada proporción de hidrocarburos aromáticos que contiene, entre los que cabe destacar los HAPs cuyos efectos cancerígenos y mutagénicos son conocidos desde hace años (Pashin and Bakhitova, 1979).

Este tipo de fueles pesados contienen asfaltenos (compuestos aromáticos de peso molecular entre 2000-5000 g/mol), hidrocarburos saturados y heteromoléculas con átomos de azufre, oxígeno, nitrógeno y metales. Además de estos, los fueles contienen hidrocarburos aromáticos volátiles como el benceno, tolueno y xileno, estando estos en baja proporción en los residuos vertidos en las costas gallegas, tanto por las propiedades del fuel original como por los procesos de evaporación posteriores al vertido y su transporte en el mar. Entre los HAPs mayoritarios presentes en este fuel,

cabe señalar el naftaleno, fenantreno, dibenzotiofeno, fluoranteno, criseno y los alquil-derivados de todos ellos (**Franco et al., 2006**). Además de estos, también se encuentran concentraciones bajas de hidrocarburos aromáticos de mayor peso molecular como benzo[a]antraceno, benzo[fluor]antenos, benzo[e]pireno, benzo[a]pireno, perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, benzo[ghi]perileno y dibenzoantracenos (**CSIC, 2003a**).

Según algunos autores (**Bernabeu et al., 2006**), el fuel transportado por el *Prestige* contenía niveles elevados de níquel y vanadio, y presentaba una capacidad de evaporación muy pobre, lo que al mezclarse con el agua y el sedimento marino dio lugar a una mezcla que ayudó a enterrarlo en las costas, pudiendo contaminar la capa freática de ciertas zonas.

Por sus características físicas y químicas, el fuel M-100 no se comercializa en la UE ya que se trata de un fuel altamente contaminante que no cumple los requisitos mínimos exigidos en las directivas comunitarias; sin embargo, sí está permitido en países en vías de desarrollo (África o Asia) con legislaciones menos estrictas (**Varela, 2003**).

La concentración de los 16 HAPs definidos por la EPA (*Environmental Protection Agency*, EEUU) del fuel del *Prestige* fue de 1264 mg/kg, lo que suponía un 0.1% del producto; además, un 3% de sus componentes eran derivados alquilados de los hidrocarburos, igualmente peligrosos; finalmente, hubo que tener en cuenta también, la presencia de metales pesados, resinas y asfaltenos en la valoración de los riesgos toxicológicos por exposición a su vertido.

Los residuos que llegaron a las costas gallegas tenían cantidades variables de estos compuestos. Su composición relativa cambiaba según el grado de transformación de las mezclas desde el punto de vertido hasta la llegada a la costa. En general, se produjo una pérdida de los compuestos más volátiles y más solubles en el agua, resultando un fuel que adquirió una consistencia más viscosa (**CSIC, 2003a**).

La biodegradabilidad en el medio del fuel M-100 todavía es desconocida, si bien, los estudios realizados por el CSIC y el CEDRE (*Centre de Documentation de Recherche et d'Expérimentations sur les pollutions accidentelles des eaux*), indican que es baja, posiblemente inferior al 10%. Por ello no es de esperar la degradación natural del residuo del *Prestige* (**Mancero, 2003**).

Los análisis de las muestras de agua, recogidas a diferentes profundidades en la columna de agua que reposa sobre el área del hundimiento del *Prestige*, indicaron unos niveles de cadmio que están dentro del rango de concentración propio de esa zona (<200 pM); en cambio, los niveles de plomo en superficie experimentaron un incremento de su concentración de hasta un orden de magnitud respecto a los valores normales oceánicos (<200 pM); lo mismo se puede indicar del cobre (concentraciones naturales <2 nM), aunque este incremento se determinó hasta los 50 metros de

profundidad. Las concentraciones de zinc eran muy superiores (2-3 órdenes de magnitud) a las naturales (<1 nM) en los 20 primeros metros y, de entre 1 y 2 órdenes de magnitud, hasta el límite de los muestreos (190 metros de profundidad). En los análisis de agua junto al pecio, también se observó un incremento en la concentración de zinc (CSIC, 2003b).

Las muestras de fuel emulsionado recogidas en la costa contenían una proporción de agua de entre el 54 y el 59%, calculado en base a su contenido en azufre. En estas mismas muestras se determinó el siguiente rango de concentración en metales (ppm): $10^4 < \text{sodio} > 10^3 < \text{aluminio, calcio, hierro, potasio, magnesio, titanio} > 10^2 < \text{bromo, níquel, vanadio} > 10 < \text{boro, bario, manganeso, molibdeno, estroncio, zinc} > 1 < \text{arsénico, cobalto, cromo, cobre, litio, selenio} > 0.1$ (CSIC, 2003a).

Finalmente, los suelos que estuvieron contaminados por el fuel del *Prestige*, presentaron una menor porosidad, además de presentar niveles de metales pesados muy elevados (Andrade *et al.*, 2004).

2. REPERCUSIÓN DE LOS VERTIDOS DE PETRÓLEO EN SERES VIVOS

Los hidrocarburos son contaminantes que afectan de manera importante a la calidad del agua; su presencia es cada día más frecuente, sobre todo en los océanos, dejando estelas de contaminación que forman una película impermeable sobre el agua, perjudicando inicialmente a las aves y mamíferos acuáticos, mediante la obstrucción del intercambio gaseoso y la desviación de los rayos luminosos necesarios para que el fitoplancton lleve a cabo la fotosíntesis.

Entre los diferentes aspectos del petróleo, cabe destacar lo siguiente (Shigenaka, 2011):

- No es un compuesto único, sino que es una mezcla de diversos componentes químicos con diferentes toxicidades y mecanismos de acción.
- Los vertidos de petróleo van cambiando su composición constantemente, y su toxicidad también varía con el tiempo.
- Los organismos afectados por el petróleo pueden estar en diferentes estadios, por lo que los efectos tóxicos van a variar de acuerdo con el organismo afectado.
- Las dosis subletales de petróleo van a afectar, también, a largo plazo a diferentes organismos, poblaciones y comunidades vivientes.
- La toxicidad del petróleo como compuesto complejo es aún difícil de comprender.

2.1. Consecuencias de los vertidos de petróleo en el ecosistema

A corto plazo, una marea negra puede provocar una reducción inmediata de la población de todas aquellas especies marinas sedentarias, o de escasa movilidad, cuyos hábitats típicos se ven más afectados directamente por la presencia de los hidrocarburos, debido a la mortalidad directa inducida, como es el caso del percebe, el erizo o los bivalvos (Celis, 2009). Existen estudios que demuestran los efectos genotóxicos y citotóxicos en mejillones de áreas afectadas por petróleo (Barsiene *et al.*, 2012).

Aquellas especies móviles, que pueden desplazarse a otras zonas menos afectadas, o de hábitats oceánicos que están expuestas a concentraciones ambientales menores de contaminantes, muy probablemente sufren una escasa mortalidad directa, por lo cual no se producirían reducciones bruscas en sus poblaciones, a corto plazo, tras los vertidos. Este sería el caso de los crustáceos, decápodos, cefalópodos y peces (Greenpeace, 2003).

En estudios recientemente realizados en peces de agua dulce (*Abremis brama*) afectados por petróleo (Lombardía, 2010), en etapa aguda se observaron inflamaciones a nivel tisular y de branquias; sin embargo, en los órganos internos como riñón o hígado no se apreciaron alteraciones mayores; así, en el estudio histológico se observó un incremento de células rodlet en tejidos renales como posible manifestación de una respuesta al estrés químico provocado por el fuel (Giari *et al.*, 2012). Así mismo, exposiciones de petróleo en arenques del Pacífico (*Clupea pallasii*), produjeron arritmias cardíacas en los peces afectados (Incardona *et al.*, 2009).

Si bien los efectos a corto plazo de los vertidos son los más llamativos y los más fácilmente detectables, quizás no sean los más preocupantes en cuanto a su repercusión sobre la dinámica de población de los recursos vivos, dado que son puntuales tanto en el tiempo como en el espacio (Khan, 1995). En este sentido, pueden ser mucho más relevantes los efectos subletales derivados de la contaminación por HAPs, a medio y largo plazo, que alteran los diferentes procesos reproductivos en muchas especies, con la consecuencia final de la reducción de la tasa reproductiva y, por lo tanto, del tamaño poblacional y de la biomasa explotable (Freire *et al.*, 2003).

La contaminación marina provoca daños también a largo plazo, como lo demuestran los estudios realizados 10 años después del derrame del *Exxon Valdez*, en los cuales todavía se observa exposición a contaminantes persistentes en los peces de las zonas afectadas (Jewett *et al.*, 2002; Rice *et al.*, 2007). También se han observado efectos adversos en poblaciones de iguanas marinas a largo plazo en el accidente del petrolero *Jessica* en las costas de Galápagos en 2001, determinando la importancia de los efectos crónicos del petróleo (Edgar *et al.*, 2003).

Las aves marinas figuran entre las especies más afectadas por los vertidos, como se demostró en las tragedias del *Erika* en las costas francesas, del *Prestige*, o del *Deep Water Horizon* en el golfo de

México, que provocaron la muerte de muchas aves marinas y la contaminación de las playas (Fodrie and Heck, 2011; García *et al.*, 2003).

Una vez producido el vertido, queda esperar y vigilar los efectos del petróleo o sus derivados sobre el ecosistema, destacando que su retirada del agua requiere de mecanismos complejos de eliminación, biodegradación y foto-oxidación (Jezequel *et al.*, 2003).

En cuanto a los efectos sobre la salud pública, en la tragedia del *Prestige*, aquellas personas que tuvieron contacto con el fuel en los trabajos de limpieza, sufrieron una intoxicación cutánea aguda que provocó dermatitis y lesiones oculares; así mismo, las sustancias que contenía el petróleo fuel M-100 del *Prestige* podrían provocar cáncer, sobre todo por su contenido en HAPs (Baars, 2002; CEDRE, 2012; Porta *et al.*, 2004).

Experimentalmente se ha demostrado que estos HAPs tenían capacidad para producir alteraciones de tipo reproductivo (alteraciones del ciclo estral y en las glándulas prostáticas) en roedores (Nishimoto *et al.*, 2009).

Recientemente, un equipo de investigadores de la Universidad de A Coruña observó daños en el ADN de ratas tras la exposición al fuel del *Prestige* por inhalación (Valdiglesias *et al.*, 2012). Asimismo, se ha demostrado genotoxicidad asociada a la exposición humana al fuel del *Prestige* tras la manipulación de aves contaminadas, para su lavado o durante la realización de necropsias (Aguilera *et al.*, 2010; Ha *et al.*, 2008; Laffon *et al.*, 2006).

Los estudios realizados después del hundimiento del *Prestige*, mostraron que el primer año fue el que más afectó a los organismos del entorno, principalmente, de la zona inter-mareal, así como los recursos acuícolas de la zona, sin embargo aún continúan realizándose estudios para evaluar el verdadero impacto del vertido de petróleo (Penela-Arenaz *et al.*, 2009).

Según los cálculos estimados, todo el fuel del *Prestige*, contenía 220 kg de cobre, 6200 kg de níquel y 24 400 kg de vanadio; sin embargo, en los estudios realizados en la columna de aguas contaminadas por el *Prestige*, se observó que el cobre y el níquel tuvieron niveles más elevados comparados con los estándares en otras regiones marinas (Santos-Echeandía *et al.*, 2008).

Los organismos marinos bioacumulan ciertos elementos químicos inorgánicos como el arsénico, cadmio, mercurio, cobre, plomo y zinc (Neff, 2002), por eso, los niveles de estos elementos en organismos marinos son utilizados como indicadores de la calidad del agua (Nageeb, 2001).

En conclusión, la evaluación de los impactos provocados por la contaminación de los océanos debería investigarse desde una perspectiva multidisciplinar y conjunta, ya que el petróleo y sus derivados son compuestos complejos que provocan daños a diferentes niveles de organización

(Harding, 1992). La toxicología acuática determina la contaminación y los riesgos provocados por los materiales tóxicos que se encuentran en los medios acuáticos y también evalúa el daño provocado en poblaciones humanas, desde el nivel subcelular hasta el de las poblaciones y ecosistemas (Degernes, 2007; Jones, 2009).

2.2. Consecuencias del vertido del *Prestige* en aves marinas de Galicia

Aplicando estudios analíticos por cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama (CG-FID), y el método de reconocimiento de patrones multivariados (Componentes principales, Clusters y Redes neuronales), es posible identificar y cuantificar componentes orgánicos de los vertidos de petróleo para determinar su origen (Fernández-Varela *et al.*, 2008; Fernández-Varela *et al.*, 2005).

Las costas gallegas, por su proximidad a la ruta de transporte de petróleo y sus derivados, están expuestas a diario a diferentes vertidos que se producen de forma ilegal (Fernández-Varela *et al.*, 2006). En ellas se reconocen dos tipos de contaminación, una de ellas como consecuencia de accidentes durante el transporte de hidrocarburos o porque las embarcaciones liberan petróleo al mar (sentinazos), y la otra de origen antropogénico proveniente de residuos de la propia costa (Grueiro-Noche *et al.*, 2010).

En Galicia existen 94 089 hectáreas protegidas para las aves, denominadas Zona Especial de Protección de Aves (ZEPA) distribuidas en 15 espacios (Xunta de Galicia, 2008). La tragedia del *Prestige* afectó de manera significativa a aves marinas residentes en Galicia, como el cormorán moñudo y la gaviota patiamarilla (SGO, 2005), y se estima que los efectos de la contaminación acuática por petróleo pueden persistir durante años (Peterson, 2001).

La recuperación de las aves marinas petroleadas depende de varios factores como la especie, grado de impregnación, edad, etc., aunque en especies como el arao, se observa que el éxito de supervivencia después de un accidente de este tipo, es muy bajo (Mead, 1997); se estima que la tasa de mortalidad de aves marinas tras un vertido es más alta de lo que se menciona, ya que muchos de los cadáveres no llegan nunca a aparecer (Michel, 2001). En estudios realizados en 45 accidentes petroleros para la evaluación de la mortalidad provocada por derrames de petróleo, se calcula que el número de aves que en realidad mueren es unas 10 veces superior al de los cuerpos que son encontrados en las costas.

Además, los indicadores que mencionan el impacto ambiental del petróleo no son muy precisos, ya que muchas veces utilizan sistemas simples que son muy confusos. Es mejor, por tanto, el análisis de cada caso particular para evaluar la mortalidad producida (Burger, 1993).

La *Dirección Xeral de Conservación da Natureza* de la Xunta de Galicia realizó un seguimiento del número de aves recogidas, vivas y muertas, en las costas de Galicia, desde el 15 de noviembre de 2002 hasta el 31 de mayo de 2003, dando como resultado un total de 12 211 aves, de las cuales 2469 (20.2%) se recogieron vivas y 9472 (77.6%) muertas (Figura 5).

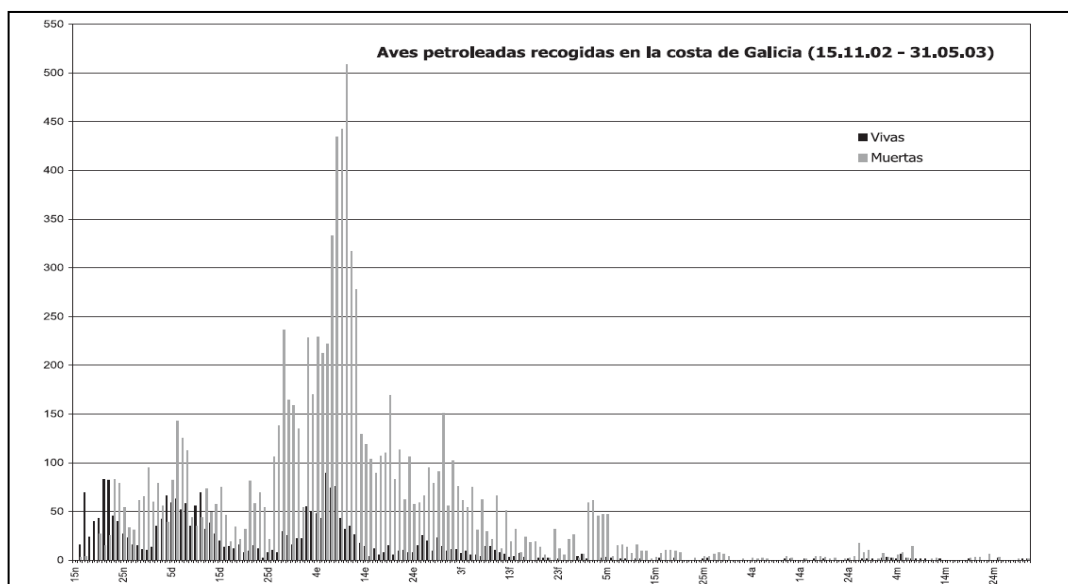


Figura 5. Gráfico temporal de aves recogidas en las costas gallegas.

Entre las aves marinas más afectadas se encontraban tres especies de álcidos – alca común (*Alca torda*), arao común (*Uria aalge*) y frailecillo atlántico (*Fratercula arctica*) – que sumaban el 80.5% del total de aves recogidas. El arao común, con 4492 individuos recogidos (1140 vivos y 3352 muertos) fue la especie más afectada (36.8%).

Al centro de rehabilitación de *O Campiño* (Pontevedra) llegaron un total de 1786 aves para su tratamiento, 476 de la costa de Pontevedra, 948 de la costa de A Coruña, 199 de la costa de Lugo y 131 de origen gallego no determinado, así como 14 de Asturias y 18 de Portugal. La instalación se mantuvo operativa hasta el 20 de marzo de 2003, llegando a liberarse un total de 275 aves tras el tratamiento. Posteriormente, se liberaron otras 26 aves desde el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de Santa Cruz (Oleiros, A Coruña), lo que supuso la recuperación de tan solo 301 aves en total, el 12.2% de las aves recogidas vivas.

Las tasas de recuperación (aves liberadas en relación a las aves recogidas vivas) están influenciadas por diferentes variables, como son la geográfica, ambientales, tipo de fuel, centros de rescate, etc. De acuerdo con la especie, se puede considerar como buena tasa de recuperación la del cormorán grande (42.9%), negrón común (30%), alcatraz atlántico (26.2%), colimbo grande (19.4%) y frailecillo atlántico (12.5%), y como aceptables, dadas las características del vertido, las obtenidas para el arao común (9.8%), cormorán moñudo (9.6%) y alca común (7.6%), tal como se refleja en la Tabla 2.

Tabla 2. Especies de aves marinas afectadas por el vertido del *Prestige*.

Especie de aves	Recogidas vivas	Recogidas muertas	Total	Aves liberadas
Colimbo chico (<i>Gavia stellata</i>)	1	6	7	0
Colimbo ártico (<i>Gavia arctica</i>)	0	5	5	0
Colimbo grande (<i>Gavia immer</i>)	31	20	51	6
Zampullín chico (<i>Tachybaptus ruficollis</i>)	1	0	1	0
Zampullín cuellinegro (<i>Podiceps nigricollis</i>)	1	0	1	1
Fulmar boreal (<i>Fulmarus glacialis</i>)	3	8	11	1
Pardela cenicienta (<i>Calonectris diomedea</i>)	0	3	3	0
Pardela capirotada (<i>Puffinus gravis</i>)	0	5	5	0
Pardela balear (<i>Puffinus mauretanicus</i>)	1	2	3	0
Pardela chica (<i>Puffinus assimilis</i>)	0	1	1	0
Pardela indeterminada	0	6	6	0
Paño europeo (<i>Hydrobates pelagicus</i>)	4	10	14	1
Paño boreal (<i>Oceanodroma leucorhoa</i>)	0	4	4	0
Alcatraz atlántico (<i>Morus bassanus</i>)	187	245	432	49
Cormorán grande (<i>Phalacrocorax carbo</i>)	21	37	58	9
Cormorán moñudo (<i>Phalacrocorax aristotelis</i>)	146	234	380	14
Cormorán indeterminado	1	50	51	0
Garceta común (<i>Egretta garzetta</i>)	2	3	5	1
Garza real (<i>Ardea cinerea</i>)	1	5	6	1
Ánade azulón (<i>Anas platyrhynchos</i>)	1	4	5	0
Negrón común (<i>Melanitta nigra</i>)	20	31	51	6
Focha común (<i>Fulica atra</i>)	0	1	1	0
Ostrero euroasiático (<i>Haematopus ostralegus</i>)	0	2	2	0
Chorlito grande (<i>Charadrius hiaticula</i>)	2	0	2	2
Chorlito patinegro (<i>Charadrius alexandrinus</i>)	1	0	1	1
Chorlito dorado (<i>Piuvialis apricaria</i>)	0	2	2	0
Chorlito gris (<i>Piuvialis squatarola</i>)	0	4	4	0
Chorlito indeterminado	0	2	2	0
Correlimos tridáctilo (<i>Calidris alba</i>)	1	0	1	1
Correlimos común (<i>Calidris alpina</i>)	2	0	2	1
Aguja colipinta (<i>Limosa lapponica</i>)	2	1	3	0
Zarapito trinador (<i>Numenius phaeopus</i>)	1	5	6	0
Zarapito real (<i>Numenius arquata</i>)	0	1	1	0
Andarríos chico (<i>Actitis hypoleucos</i>)	0	2	2	0
Vuelvepedras (<i>Arenaria interpres</i>)	0	6	6	0
Falaropo picogruoso (<i>Phalaropus fulicarius</i>)	0	2	2	0
Págalo grande (<i>Catharacta skua</i>)	1	11	12	0
Gaviota tridáctila (<i>Rissa tridactyla</i>)	9	46	55	3
Gaviota reidora (<i>Larus ridibundus</i>)	3	42	45	0
Gaviota sombría (<i>Larus graellsii</i>)	3	31	34	1
Gaviota argénteo (<i>Larus argentatus</i>)	0	7	7	0
Gaviota patiamarilla (<i>Larus michahellis</i>)	103	531	634	16
Gaviota indeterminada	10	200	210	8
Gavión atlántico (<i>Larus marinus</i>)	1	8	9	0
Charrán patinegro (<i>Thalasseus sandvicensis</i>)	0	2	2	0
Charrán indeterminado	1	3	4	0
Alca común (<i>Alca torda</i>)	589	2272	2861	45
Arao común (<i>Uria aalge</i>)	1140	3352	4492	112
Frailecillo atlántico (<i>Fratercula arctica</i>)	168	2305	2473	21
Mergullo atlántico (<i>Aile aile</i>)	8	37	45	0
Martín pescador (<i>Aicedo atthis</i>)	2	2	4	1
Otras aves	2	185	187	0
Total	2469	9742	12 211	301

3. CARACTERÍSTICAS Y ECOTOXICIDAD DE LOS ELEMENTOS QUÍMICOS EVALUADOS

3.1. Arsénico (As)

El arsénico es un metaloide de origen natural, presente en la hidrosfera y en la biosfera, muy común en la atmósfera, rocas y suelos. Es movilizado al medio ambiente a través de una combinación de procesos naturales (meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas), y procesos antropogénicos, tales como la actividad minera y/o el uso de combustibles fósiles, pesticidas (insecticidas, herbicidas, conservadores de madera, etc.), desecantes o aditivos de piensos, etc. (Lillo, 2007).

En los últimos años, la minería, el uso intensivo de fertilizantes y la eliminación de desechos sin depurar, han contaminado las aguas, tanto marinas como dulces y subterráneas, causando graves problemas a la salud pública y a la ecología, incluidas las aves marinas, por encontrarse éstas en la parte más alta de la cadena trófica. La solución de este problema tiene que afrontarse de manera multidimensional en el futuro (Bhattacharya *et al.*, 2007).

El As es un elemento ya utilizado por el hombre desde la edad de bronce. Aún no está muy clara su función en el sistema biológico, aunque se conoce la existencia de microorganismos que lo aprovechan para producir energía (Phillips, 1990). La forma dominante de As en el medio marino es el arsenato pentavalente, As (V). Es más tóxico y cancerígeno en la forma arsina (AsH_3) que constituye el 20% de las formas totales del arsénico en agua marina (AFIP, 2011; Neff, 1997). La toxicidad del As inorgánico en su forma trivalente (arsenito) se debe a su afinidad por los grupos sulfhidrilos (-SH) proteicos, lo que provoca una inhibición enzimática. El As inorgánico pentavalente (arsenato), tiene una estructura similar a la del fosfato y puede interferir en las reacciones metabólicas que requieren fosforilación (Kunito *et al.*, 2008).

Este elemento es considerado como no esencial y potencialmente tóxico en animales. La WHO recomienda una PTWI (ingesta provisional tolerable semanal) para humanos de 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso/semana referido sólo a arsénico inorgánico (IOM, 2001; WHO, 2011). La concentración máxima de arsénico en peces para consumo humano recomendado por la Agencia americana de protección medioambiental (*Environmental Protection Agency*, EPA) es de 0.0175 $\mu\text{g}/\text{L}$, mientras que el nivel promedio global de As en el océano es de 1.7 $\mu\text{g}/\text{L}$. La cantidad de As que contiene el hígado de los mamíferos marinos es muy variable, pudiendo oscilar entre 0.10 y 7.68 ppm peso seco (ppm p.s.); aquellos que se alimentan mayoritariamente de cefalópodos y crustáceos tienen niveles más elevados que los que se alimentan de peces (Kubota *et al.*, 2001).

Experimentos realizados en caprinos a los que se les administró arsénico (2 mg/kg) durante 84 días, mostraron un aumento de las amino transaminasas hepáticas (AST y ALT), cambios histopatológicos compatibles con degeneración grasa en hepatocitos, descamación de los conductos biliares, así como zonas de necrosis hepática; estas lesiones también fueron observadas en roedores (**Ghatak et al., 2011; Patra et al., 2012**); asimismo en caprinos, la administración de vitamina E demostró tener efectos protectores y antioxidantes contra los efectos del arsénico (**Das et al., 2012**).

En aves marinas, las concentraciones elevadas de As producen la destrucción de los vasos sanguíneos del intestino, provocando una disminución de la presión arterial y muerte por shock vascular. Las aves con contaminación crónica de arsénico presentan un menor crecimiento y alteraciones en el desove y en el grosor de la cáscara del huevo (**Nystrom, 1984**).

3.2. Cadmio (Cd)

El Cd es un metal pesado que causa riesgos severos para la salud animal y humana. Todavía se desconoce su posible función fisiológica en los humanos o en las aves (**Burger, 2008**). Su toxicidad fue descrita por primera vez por Friedrich Stromeyer en 1817, siendo capaz de provocar lesiones en el riñón, los huesos y el pulmón, y de alterar la función reproductora (**Godt et al., 2006; Thompson and Bannigan, 2008**). La Organización Mundial de la Salud indica una PTWI (ingesta provisional tolerable semanal) para humanos de 7 µg/kg peso/semana (**WHO, 2011**).

El cadmio se obtiene como producto secundario durante la extracción de metales como el zinc, plomo o cobre, y también se recupera de baterías eléctricas usadas. El cadmio se emplea principalmente para la fabricación de baterías (83%), pinturas antifúngicas (p.e. usados en la industria naval) (8%), recubrimientos electrolíticos (7%), estabilizadores de plásticos (1.2%), aleaciones sin hierro, instrumentos fotovoltaicos y otros usos (0.8%) (**ATSDR, 2008b**).

El Cd está presente en la naturaleza unido sobre todo al zinc, pudiendo acumularse en los organismos por su mimetismo con otros metales esenciales como el calcio, el zinc o el hierro (**Martelli et al., 2006**); sus mecanismos de toxicidad son variados; entre otros, puede formar parte de complejos macromoleculares, reemplazando iones de metales esenciales (como el zinc) en las enzimas (ej. carboxipeptidasas). Las reacciones del Cd con grupos biológicamente activos como el carboxil-, sulfhidril-, disulfitos y grupos fosfátidos son también muy importantes a la hora de entender su toxicidad, ya que pueden bloquearlos (**Möhlenberg and Jensen, 1980**).

Estudios recientes indican que el cadmio es capaz de inducir efectos epigenéticos⁴ en células de plantas y mamíferos tanto *in vitro* como *in vivo*, induciendo una transformación maligna de las células, así como efectos carcinogénicos (**Wang et al., 2012**); sin embargo en poblaciones japonesas con alto consumo de peces, posiblemente contaminados con Cd, no se observó una correlación con la aparición de cáncer (**Sawada et al., 2012**)

En pavos a los que se les administró una dosis de 2 mg de cadmio/día/animal, se observó que el cadmio se acumuló en músculo, hígado y riñón, siendo su promedio en riñón el más elevado (1.09 mg/kg); a otro grupo de pavos se les administró zinc además de cadmio, y se observó que este grupo Cd-Zn, tuvo concentraciones inferiores de Cd en los diversos compartimentos (**Nad et al., 2012**). Por otro lado, en ratas se ha demostrado que el cadmio administrado de forma sub-crónica es promotor de osteoporosis (**Noel et al., 2004**).

El Cd tiende a acumularse con la edad, aunque estudios realizados en aves marinas no mostraron muchas diferencias entre individuos de distintas edades, pudiendo ser la dieta un factor más importante en la acumulación de Cd (**Stewart and Furness, 1998**). Por otra parte, la bioacumulación de Cd es más elevada en el riñón (sobre el cual ejerce un efecto nefrotóxico) que en el hígado, siendo ambos los órganos críticos en su acumulación, debido a su baja capacidad de eliminación por la unión del Cd con las metalotioneínas (MTs) de los tejidos en dichos órganos (**García-Rico et al., 1999**).

3.3. Cobalto (Co)

Está distribuido en las rocas, tierra, agua y vegetación, y suele estar asociado al níquel. Se pueden encontrar concentraciones elevadas de este metal en los residuos de aguas industriales, así como en los desechos de fertilizantes utilizados en la agricultura. El Co es un elemento esencial para los animales, debido a que es necesario para la síntesis de vitamina B₁₂. No se observa con mucha frecuencia formando metaloproteínas, debido a su escasez y competencia con el hierro (**Okamoto and Eltis, 2011**).

Según la EPA, se han detectado 2 µg/L como niveles promedio de Co en agua potable, y niveles por encima de 107 µg/L están descritos como tóxicos; en humanos los niveles tolerables están entre 5-40 µg/día. Los efectos tóxicos agudos provocan congestión respiratoria, edema pulmonar y hemorragia en el pulmón (**ATSDR, 2004b**).

⁴ La epigenética (del griego epi, en o sobre, y -genética) hace referencia, en un sentido amplio, al estudio de todos aquellos factores no genéticos que intervienen en la determinación de la ontogenia o desarrollo de un organismo, desde el óvulo fertilizado hasta su senescencia, pasando por la forma adulta. Es la regulación heredable de la expresión génica sin cambio en la secuencia de nucleótidos.

En conejos expuestos a cobalto durante 15 semanas se observó un incremento de macrófagos alveolares, los cuales presentaban un tamaño mayor que los controles (**Johansson et al., 1986**).

El cobalto se acumula en hígado, riñón, páncreas y corazón. En altas concentraciones es tóxico tanto para los humanos, como para los animales terrestres, acuáticos y plantas. La toxicidad celular del Co está provocada por la inhibición de la respiración celular y de las enzimas del ciclo del ácido cítrico (**Pourkhabbaz et al., 2011; Simonsen et al., 2012**).

3.4. Cobre (Cu)

El cobre es un elemento que se encuentra en la naturaleza, y es además, un micronutriente esencial para el crecimiento y el metabolismo de los organismos vivos. En humanos la ingesta diaria recomendada (RDA) se estima en 0.9 mg/día en personas adultas y el nivel máximo de ingesta tolerable (UL) diaria para adultos entre 8-10 mg (**IOM, 2001**). Es uno de los metales pesados más tóxicos del medio acuático, donde se encuentra mayoritariamente como ion cúprico libre (Cu^{+2}); sin embargo, las aves y los mamíferos son muy resistentes a este metal (**Eisler, 1998**).

Las concentraciones de cobre en agua de mar superficial están comprendidas entre 0.03 y 0.23 g/L y 0.20 a 30 g/L en ecosistemas de agua dulce, pero en ambientes contaminados por la minería, se pueden observar concentraciones de hasta 200 000 g/L (**EPA, 2007**).

La agencia americana de protección ambiental requiere que el agua potable no contenga más de 1.3 mg/L y el ministerio de agricultura de EE.UU. recomienda una dosis diaria de 900 $\mu\text{g/día}$. Por otra parte la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional americana (OSHA) ha establecido un límite para vapores de cobre en el aire de 0.1 mg/m^3 y de 1 mg/m^3 para polvos de cobre (**ATSDR, 2004a**).

Se emplea como fungicida a altas concentraciones, sin embargo a diferencia de los pesticidas orgánicos, no es degradable y permanece en el complejo ciclo biogeoquímico; en agua dulce el ciclo de vida del Cu va a estar estrechamente ligado a la dureza del agua y al pH, afectando de esa manera su biodisponibilidad y toxicidad. En algunas especies de moluscos la tolerancia al cobre es muy alta, sin embargo en algunas especies de peces, a concentraciones bajas es muy tóxico (**Kiaune and Singhasemanon, 2011**).

Los mejillones (*Perna perna*), a dosis sub-letales de cobre (25-50 $\mu\text{g/L}$), mostraron un aumento de secreción de mucosidad, un incremento de la excreción de nitrógeno y un aumento de consumo de oxígeno resultando una producción excesiva de especies reactivas al oxígeno y un consiguiente daño del ADN (**Vosloo et al., 2012**). Sin embargo no todas las especies tienen los mismos

requerimientos de cobre; así, los rumiantes y sobre todo el ganado ovino, son más vulnerables a la deficiencia de cobre que los humanos, debido a la generación de sulfitos por parte del forraje en el rumen (**Suttle, 2012**).

En modelos de ratones experimentales (E200KCJD) se observó que el cobre a dosis elevadas produce efectos tóxicos potenciando la generación de proteínas priónicas (**Canello et al., 2012**), produciéndose la homeostasis de este metal como una forma coordinada de diferentes proteínas (Cu-ATPasas) así como de metalotioneínas (**Cai et al., 2005**).

El gluconato de cobre empleado en Estados Unidos como aditivo en dulces y bebidas, y en la Unión Europea como ingrediente en alimentación a dosis elevadas, de forma experimental ha demostrado tener efectos carcinogénicos en hígado de roedores, así como también efectos de estrés oxidativo y señales pro-apoptóticas (**Abe et al., 2008**). Sin embargo los efectos tóxicos del cobre en truchas no fueron muy significativos comparados a los de peces carpa (**De Boeck et al., 2007**).

La enfermedad de Wilson⁵ es una enfermedad observada en mamíferos y humanos en la cual el cobre está implicado. Las exposiciones de cobre a largo plazo provocan irritación nasal, ocular y bucal causando dolores de cabeza, mareos y diarreas (**ATSDR, 2004a**); si la exposición al cobre continúa, provoca daño hepático y renal. Sin embargo, los mamíferos y las aves han demostrado ser de 100 a 1000 veces más resistentes a la intoxicación por cobre que otros animales (**Eisler, 1998**).

En experimentos realizados en ovejas, se observó que los animales con menos de 1000 mg/kg en hígado no presentaban alteraciones; sin embargo niveles superiores causaron un incremento de las transaminasas indicando un daño hepático. Las aves domésticas alimentadas con dietas que contenían 350 mg/kg de cobre, presentaron hemorragias en la molleja. En pavos domésticos sin embargo, la administración de dosis altas de cobre de hasta 800 mg/kg, junto con la dieta normal, no mostraron alteraciones; sin embargo dietas exclusivas de cobre (sin otro alimento) de sólo 50 mg/kg resultaron ser nocivas (**Eisler, 1998, 2010**).

3.5. Cromo (Cr)

El Cr, en su forma cristalina, es un metal duro, brillante y de color plateado metálico. En la naturaleza se presenta en forma de cuatro isótopos: el Cr-50 (4.3%), Cr-52 (83.8%), Cr-53 (9.6%) y Cr-54 (2.4%); de forma sintética se pueden encontrar hasta 7 isótopos. Se trata de un elemento muy estable, a pesar de lo cual no es usual encontrarlo en su forma elemental. En el medio ambiente

⁵ La enfermedad de Wilson hace que el cuerpo absorba y acumule demasiado cobre, el cual se deposita en el hígado, el cerebro, los riñones y los ojos. Los depósitos de cobre ocasionan daño tisular, muerte del tejido y cicatrización, lo cual hace que los órganos afectados dejen de funcionar bien.

aparece en sus formas trivalente (III) y hexavalente (VI), principalmente, porque son las formas más estables (Eisler, 1985).

Los niveles de cromo en aguas oceánicas son bajos (0.05 - 0.5 ppb); en los sedimentos del Océano Pacífico son algo más elevados (4-39 ppm) (Mearns, 1974). En animales, la intoxicación por cromo, sobre todo hexavalente, provoca necrosis tubular renal aguda y, en concentraciones elevadas, también necrosis hepática (ATSDR, 2008a; Pechova and Pavlata, 2007).

El cromo hexavalente y el hidrocarburo aromático policíclico benzo(a)pireno demostraron inhibir la actividad de los genes supresores de tumor en cultivos celulares de hepatoma de ratón (Hepa-1) y en ratones *in vivo*, demostrando los efectos tóxicos del cromo a largo plazo (Fan *et al.*, 2012).

En los seres vivos, el Cr se encuentra en la forma trivalente, siendo esencial en los mamíferos para mantener la eficiencia del transporte de la glucosa y los lípidos, así como el metabolismo de las proteínas (NRC, 1986). Además, esta es la forma menos tóxica en mamíferos, debido a la baja permeabilidad de la membrana y a su baja biomagnificación. El Cr (VI) es 500 veces más tóxico, y presenta mayor movilidad, que el Cr (III), estando asociado al desarrollo de cáncer de riñón e hígado; también causa necrosis hepática y necrosis tubular en riñón, y lesiones gástricas compatibles con úlceras en humanos (Altun and Pehlivan, 2012). En humanos la ingesta diaria recomendada (RDA) oscila entre 20 y 35 $\mu\text{g}/\text{día}$ por persona adulta (según sexo y edad) (IOM, 2001).

3.6. Hierro (Fe)

El Fe es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre (5%). Entre los metales, sólo el aluminio es más abundante. En los seres vivos existe en pequeñas cantidades, sin embargo, su papel es vital en su crecimiento y supervivencia, siendo necesario no solo para lograr una adecuada oxigenación tisular, sino también para mantener el metabolismo de la mayor parte de las células. La principal fracción del hierro corporal se encuentra en el eritrocito, cuyos niveles son fáciles de medir (Jarup, 2003). Para humanos la ingesta diaria recomendada (RDA) se estima en adultos entre 8 y 11 mg y para mujeres en edad fértil de 15 a 18 mg/día, siendo el nivel máximo de ingesta tolerable (UL) diaria para adultos de 45 mg/día (IOM, 2001).

A diferencia del plomo o el cobre, la ingestión de hierro en agua potable no está directamente asociada a efectos adversos para la salud, por lo que no existe una reglamentación como elemento nocivo. Sin embargo, basándose en las características organolépticas, la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU. ha establecido un nivel máximo de 0.3 mg/L, clasificándolo como un contaminante secundario (EPA, 1993).

Tanto el exceso, como el defecto, de hierro pueden provocar problemas en el organismo. El defecto de hierro se ha demostrado que puede provocar apoptosis, mientras que una ingesta exagerada de este, especialmente cuando se utiliza como suplemento en el tratamiento de anemias, puede provocar una intoxicación. Así, el exceso de hierro (hemocromatosis) provoca fibrosis hepática y como consecuencia causa una cirrosis; también está relacionado con la diabetes ya que hace que las células beta del páncreas tengan una sobrecarga de actividad; por otra parte, el corazón, también se ve afectado manifestando insuficiencias cardíacas. Los signos clínicos que produce son dificultad respiratoria, distensión abdominal y parálisis (**Le and Richardson, 2002; Ma et al., 2012; Pérez López et al., 2005**).

3.7. Manganeso (Mn)

El manganeso es uno de los metales más abundantes de la tierra, representando aproximadamente el 0.1% de la corteza terrestre no encontrándose en estado puro (elemental), sino formando más de 100 minerales. En el agua de mar, las concentraciones normales están entre 0.4 y 10 g/L, con un promedio de 2 g/L (**EPA, 2004**).

El Mn es un micronutriente esencial que interviene como cofactor de procesos metabólicos. Su exceso se relaciona con alteraciones nerviosas (efectos neurotóxicos) similares a las provocadas por el exceso de plomo (**Burger, 2002**). En humanos la ingesta diaria recomendada (RDA) se situaría entre 2.3 mg/día para hombres adultos y 1.8 mg/día para mujeres adultas. El nivel máximo de ingesta tolerable (UL) de manganeso sería de 11 mg/día (**IOM, 2001**).

Más del 95% del Mn es eliminado por las vías biliares, en cuyo proceso puede asociarse al hierro, zinc, aluminio y cobre (**Burger, 2002**).

Se ha demostrado que la acumulación de manganeso en neuronas puede provocar una destrucción de estas células causando síntomas de la enfermedad de Parkinson (**Olanow, 2004**).

La intoxicación por Mn, conocida como manganismo, fue descrita por Couper en 1837 en trabajadores expuestos a un exceso de Mn por vía oral; en ellos se observaron signos clínicos similares al Parkinson que afecta a las funciones motoras de los seres humanos (**Santos et al., 2012**). Puede afectar también a las funciones hepáticas, pero los umbrales tóxicos son relativamente altos. Además, se ha observado que el aumento de Mn provoca una sobreacumulación de este mineral en los órganos del sistema inmune (bazo, bolsa de Fabricio y timo) alterando el equilibrio de otros micronutrientes y resultando alterada la respuesta inmune de gallinas (**Liu et al., 2012; Roels et al., 2012**).

3.8. Mercurio (Hg)

El Hg no tiene función metabólica conocida. Se considera que su presencia en los organismos vivos es consecuencia de la contaminación. Ha sido utilizado para la extracción de oro, en la manufactura de sombreros de fieltro y espejos, en la producción de instrumentos eléctricos, fungicidas, y en la industria del papel y los plásticos (Ahmad *et al.*, 2012).

El mercurio es el único metal en estado líquido a temperatura ambiente; aparece, principalmente, combinado con el azufre, y se encuentra en todos los ecosistemas; así, el agua dulce contiene un promedio de 0.1 µg/L, el agua de mar 0.3 µg/L y el aire 0.005-0.06 ng/m³. La corteza terrestre presenta un promedio 0.02 ppm (EPA, 1997).

El Hg es un elemento indeseable y de alto riesgo toxicológico para los organismos, en los que puede bioconcentrarse y biomagnificarse a través de la cadena trófica; las formas de mercurio metálico, poco tóxicas, pueden transformarse en orgánicas altamente tóxicas como el metilmercurio, producido por la metilación del mercurio inorgánico. En el medio ambiente tiene un comportamiento muy complejo, pudiendo dispersarse a lugares alejados de su origen, por lo que es importante el uso controlado de este elemento (Eisler, 1987).

Son muy conocidos los efectos neurotóxicos, mutagénicos, carcinogénicos y teratogénicos del Hg (EPA, 1997; Furness and Camphuysen, 1997; Kojadinovic *et al.*, 2007a). La Organización Mundial de la Salud propone en humanos una ingesta provisional semanal (PTWI) de mercurio total de 5 µg/kg peso/semana (WHO, 1978, 2011).

En roedores se ha demostrado experimentalmente que el mercurio tiende a acumularse en riñón (Lin *et al.*, 2012; Yorifuji *et al.*, 2010), y que en peces (*Sparus aurata*), el incremento de la temperatura influye considerablemente en la acumulación de mercurio (Guinot *et al.*, 2012).

Asimismo, algunos investigadores han demostrado que el mercurio en humanos, a dosis bajas pero en periodos de exposición prolongados, causaba fatiga, anorexia, pérdida de memoria, eretismo, visión borrosa y problemas dentales (Holmes *et al.*, 2009; Neghab *et al.*, 2012).

La forma más nociva del mercurio es el metilmercurio (Li *et al.*, 2010; Murata *et al.*, 2011), observándose en peces la producción de embriones anormales (efectos teratogénicos), debido probablemente a que el mercurio es responsable de inhibir el ciclo celular y, por tanto, de disminuir la multiplicación celular (Crespo-López *et al.*, 2011).

3.9. Plomo (Pb)

En los últimos 5000 años la utilización de plomo por el hombre ha liberado cantidades elevadas de este metal tóxico, estimándose que alrededor de la mitad de lo que se produce se libera como contaminante (1.6 de los 3.4 millones de toneladas). Las principales fuentes de exposición al plomo son la gasolina, barro vidriado, pinturas, juguetes, alimentos enlatados, vidrios de alto índice de refracción, insecticidas, baterías, municiones, plomadas para pesca, pinturas navales anti-incrustaciones, etc. (EPA, 2006). En humanos la Organización Mundial de la Salud propone una ingesta provisional tolerable semanal (PTWI) para el plomo de 25 µg/kg peso/semana (WHO, 2011).

En España, el uso de perdigones de plomo durante la cacería es un factor importante de contaminación ambiental, lo que provoca no sólo la contaminación de los animales (muchas aves confunden semillas con perdigones, ingiriéndolos), sino también del medio ambiente. Actualmente se reemplazan por acero, estando prohibido el uso de perdigones de plomo en las zonas de humedales de España (AESAN, 2012; Guitart *et al.*, 2010; INAC, 2010; Suárez and Urios, 1999).

En los vertebrados, la intoxicación crónica por Pb recibe el nombre de saturnismo, y afecta tanto a aves como a carnívoros, rumiantes y seres humanos. El plomo se acumula en hígado, corazón, cerebro o huesos y provoca anemia debido a que bloquea la síntesis de hemoglobina. La absorción digestiva del Pb es pobre, del orden del 2% para el Pb metálico (presente en las pinturas, vitrificados, etc.), siendo más elevada para las sales como el acetato de plomo, especialmente en los animales más jóvenes. Una carencia de calcio, o de proteínas, aumentará la absorción del elemento, mientras que un exceso de Zn o de calcio la disminuirá. La absorción del Pb por vía pulmonar es más elevada, de hasta un 30%. Además, las formas como el tetraetil plomo pueden atravesar la piel con facilidad (Carbonell *et al.*, 2007).

3.10. Selenio (Se)

El Se es un elemento esencial en la dieta de las aves, estando relacionado con la vitamina E. Está ligado a las proteínas, principalmente globulinas y se distribuye por todo el organismo, aun cuando se deposita en mayor proporción en el hígado, riñones, bazo y corazón (Anzola, 1999).

El Se tiene 3 niveles de actividad biológica: el primero, como elemento traza, siendo necesario para el crecimiento y desarrollo normales; el segundo, en concentraciones moderadas, para mantener las funciones homeostáticas; y el tercero, en concentraciones elevadas, con efectos tóxicos (Hamilton, 2004). La ingestión del selenio a través del agua o de la dieta, se bioacumula enlazándose a grupos sulfhidrilos (-SH) hasta llegar a provocar efectos nocivos (Eisler, 1988). En humanos la ingesta

diaria recomendada (RDA) se situaría en 55 µg/día y el nivel máximo de ingesta tolerable (UL) sería de 400 µg/día (**IOM, 2000**).

Como consecuencia de la contaminación de las aguas con niveles altos de este elemento, casi siempre por tratamientos utilizados en la agricultura, se han observado efectos adversos en aves acuáticas silvestres, tales como aumento de la mortalidad, trastornos en la reproducción incluyendo teratogénesis, reducción del crecimiento, necrosis hepática, disminución del tamaño del riñón, atrofia del bazo y tejido muscular, además de alteración del metabolismo del glutatión hepático (**Hoffman, 2002**).

3.11. Vanadio (V)

En la corteza terrestre, el V ocupa el lugar 22 entre los elementos más abundantes, constituyendo de un 0.014 a un 0.02% de su composición. Participa en la síntesis de clorofila en los organismos fotosintéticos y se considera un micronutriente para varias especies marinas y terrestres. Se utiliza en la terapia contra la diabetes y la obesidad. Además, por sus propiedades moduladoras de la expresión de diversos genes, se emplea como agente anticarcinogénico en modelos experimentales (**García, 2006**).

El pentóxido de V (V_2O_5) se utiliza, principalmente, en la fabricación de acero y, en menor proporción, en la fabricación de plásticos, cerámica, caucho y otros productos químicos. Se encuentra, también de forma natural, en los combustibles derivados del petróleo y del carbón. Los combustibles crudos contienen trazas detectables de V (desde menos de 1 a 1600 mg/kg) y las cenizas de la combustión del petróleo contienen más de un 80% de V_2O_5 (**ATSDR, 1996**).

Las concentraciones de V en el agua del mar habitualmente están en un rango de 1 a 3 µg/L, mientras que en sedimentos costeros los valores oscilan entre 7 µg/L y 200 µg/L de peso seco. El desgaste de las rocas oceánicas y de los minerales terrestres libera V al agua y al aire. Se considera que la concentración promedio de este metal en el suelo es de unos 100 µg/g de peso seco, aunque en suelos cercanos a plantas metalúrgicas, los valores pueden superar los 400 µg/g (**Rodríguez-Mercado and Altamirano-Lozano, 2006**). En humanos se considera que el nivel máximo de ingesta tolerable (UL) para el Vanadio es de 1.8 mg/día en adultos (**IOM, 2001**).

En general, respecto a la toxicidad de elementos inorgánicos, está siendo probado que partículas en suspensión provocan toxicidad pulmonar potenciada por los contenidos de hierro, níquel y vanadio (**Campen et al., 2002**); así, en estudios recientes se ha puesto de manifiesto que la concentración de partículas en suspensión, asociadas sobre todo al vanadio, está relacionada con el daño ocasionado en mitocondrias miocárdicas en roedores, además de provocar una alteración de la función respiratoria (**Golomb et al., 2012**). En una intoxicación por metavanadato de amonio

(NH_4VO_3), la paciente presentó signos de dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea, hipoglucemia y fallo renal. El análisis de sangre mostró niveles de 6.22 ml/L de vanadio, es decir, 600 veces más de la cantidad de un individuo normal (**Boulassel *et al.*, 2011**).

3.12. Zinc (Zn)

El Zn se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y constituye aproximadamente un 0.02% de la corteza terrestre. Adopta la forma de sulfuro (esfalerita), carbonato, óxido o silicato (calamina) de zinc. La esfalerita, el principal mineral de Zn y fuente de, al menos, el 90% del Zn metálico, contiene hierro y cadmio como impurezas. El Zn metálico se puede troquelar para la fabricación de piezas de automóviles, equipos eléctricos, herramientas de maquinaria ligera, equipos informáticos, juguetes y artículos ornamentales. También puede laminarse para la obtención de planchas destinadas a tejados y cubiertas, forros de pilas secas, placas de fotograbado, etc. Además, puede alearse con cobre, níquel, aluminio y magnesio; cuando se alea con cobre, se obtiene el importante grupo de aleaciones denominadas bronce (**OIT, 2011**).

El Zn tiene una función importante en la fisiología, ya que interviene en el metabolismo, tanto como cofactor de las reacciones, como estabilizador de las enzimas. También interviene en el crecimiento y la proliferación celular, la respuesta inmune, los procesos reproductivos, el metabolismo hormonal y la protección frente a los radicales libres. Por el contrario, el exceso de Zn intracelular es potencialmente neurotóxico, debido a que promueve la producción de especies reactivas al oxígeno (ROS) intra y extra mitocondriales, que inducen apoptosis y/o necrosis (**Nzengue *et al.*, 2011**).

Para humanos la ingesta diaria recomendada (RDA) se estima en 11 mg/día en hombres adultos y 8 mg/día en mujeres adultas y el nivel máximo de ingesta tolerable (UL) diaria para adultos es de 40 mg (**IOM, 2001**).

La función de las metalotioneínas y los metales pesados

Las MTs constituyen una familia de proteínas ricas en cisteína, de bajo peso molecular (entre 6000 y 7000 Da) que se localizan en el aparato de Golgi de las células. Las MTs tienen la capacidad de unirse tanto a los metales pesados endógenos (zinc, cobre, selenio, cromo) como xenobióticos (cadmio, mercurio, plata y arsénico), a través de los grupos tiol (-SH) de sus restos de cisteína, que representan casi el 30% de su composición aminoacídica (**Duncan, 2009**).

Las MTs fueron aisladas por primera vez por Margoshes y Vallee (1957) a partir de riñón de caballo, siendo caracterizadas después por Kāgi y Vallee (1960), quienes lograron purificar una

proteína con alto contenido de cadmio, zinc y azufre. Estas proteínas representaron el 1% del peso total de la corteza renal de equino, a las cuales estaban unidos todo el Cd y el 60 % del Zn (**García-Rico et al., 1999**).

Posteriormente, estas proteínas se han aislado de tejidos de mamíferos, plantas y levaduras, observándose gran variedad de funciones en cada especie, lo que ha hecho difícil establecer su papel biológico específico. En estudios experimentales con mamíferos se demostró que dosis repetidas de Cd provocaban, no solo la acumulación del metal, sino también el incremento de la concentración de las MTs a la cuales se enlaza. Asimismo, en trabajos experimentales *in vitro* con cultivos de hepatocitos de rata (HPC) y co-cultivos de dichos hepatocitos con una línea de células epiteliales de hígado de rata (COC), se demostró que el proceso de detoxificación fue dependiente del complejo Cd-MT formado, siendo más eficiente el co-cultivo que el cultivo puro (**Carrera et al., 1992**). Estos resultados demostraron que la síntesis de estas proteínas se estimula como consecuencia de una respuesta celular ante la presencia de Cd y que, la unión del metal a las proteínas, podría ser un mecanismo de defensa y desintoxicación (**Nordberg, 2009**).

Clasificación de las MTs

Las MTs se clasifican y nombran en base al metal que ligan. Así, una MT que contiene un solo metal, por ej. Cd, se denomina cadmiometalotioneína (CdMT) o Cdtioneína.

En base a sus características estructurales, las MTs se subdividen en las siguientes clases:

- *Clase I*: Polipéptidos con estructura primaria muy relacionada con las MTs renales de equino.
- *Clase II*: Polipéptidos en los cuales la localización de las cisteínas es muy distinta a la metalotioneína renal de equino.
- *Clase III*: Polipéptidos atípicos que no son traduccionalmente⁶ sintetizados como metaltiol.

La principal función que se ha encontrado para las MTs es el mantenimiento de la homeostasis del Zn y Cu durante el desarrollo embrionario y en la edad temprana. Cuando se expone el organismo a metales pesados no esenciales, como el Cd, se produce el desplazamiento de los elementos esenciales, formando complejos CdMT nefrotóxicos. Estos llegan a provocar daños tubulares de diferente magnitud, dependiendo de su concentración, de la vía de entrada al organismo, así como de la especie, la edad y el sexo del individuo; las investigaciones al respecto deben tener en cuenta estos factores para llegar a esclarecer el mecanismo mediante el cual se produce el efecto desintoxicador de esta proteína (**García-Rico et al., 1999**).

⁶ En genética: paso de ARN a proteína

4. ETOLOGÍA GENERAL DE LAS AVES MARINAS AFECTADAS POR EL PETRÓLEO DEL *PRESTIGE* EVALUADAS EN EL PRESENTE ESTUDIO

Entre las aves marinas más afectadas, se encuentran tres especies de álcidos – alca común (*Alca torda*), arao común (*Uria aalge*) y frailecillo atlántico (*Fratercula arctica*) – que aportan el 80.5% del total de aves recogidas. El arao común con 4492 (36.8%) individuos recogidos (1140 vivos y 3352 muertos) es la especie más afectada.

Estas 3 especies constituyen el material principal objeto de este estudio, en el cual también se han evaluado en menor proporción muestras de cormorán gigante (*Phalacrocorax aristotelis*), cormorán moñudo (*Morus bassanus*) y gaviota patiamarilla (*Larus michahellis*). A continuación se resume la descripción, hábitat y etología de estas 6 especies de aves marinas.

4.1. Alca común (*Alca torda*)

Nombre en inglés: *Razorbill*

Orden: CHARADRIIFORMES

Familia: ALCIDAE

Género: *Alca*

Descripción

Miden entre 38 y 43 cm de longitud y de 60 a 69 cm de envergadura, pueden llegar a pesar 800 g (Svensson *et al.*, 2000) (Figura 6).

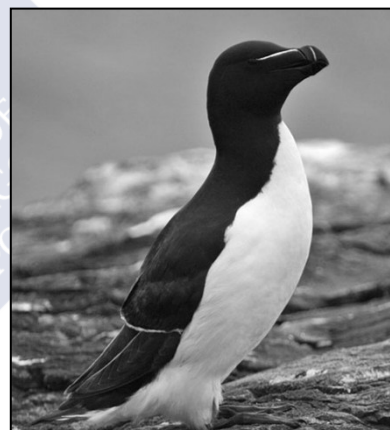


Figura 6. Alca común (*Alca torda*).

Está clasificada por la IUCN como especie no amenazada (Stattersfield *et al.*, 2000).

No presentan dimorfismo sexual. El cuello es corto y grueso, el pico es grande, ancho y aplanado verticalmente, está algo curvado en su extremo y es de color negro (Wagner, 1999).

Los ojos son pequeños y de color negro, la cola es corta y puntiaguda, alas cortas, patas también cortas, de color gris muy oscuro y con los dedos palmeados; tienden a nadar de forma más oblicua (Watanuki *et al.*, 2006).

También se han encontrado individuos con líneas verticales en el pico, similares a las del alca gigante (*Pinguinus impennis*), demostrando un ancestro común para las alcas comunes (Lavers *et al.*, 2005).

Hábitat

Esta especie está presente en Islandia, en las costas atlánticas de América del Norte y de Europa, así como en las costas del Norte de Europa y Asia (**Domínguez Conde, 2003**).

En la Península Ibérica, es un invernante habitual; se pueden ver ejemplares durante el invierno en las costas del Cantábrico y de Galicia, y en menor número en las costas del Mediterráneo. Se encuentran en grandes bandadas en alta mar durante el invierno y se acercan en verano para reproducirse en las costas rocosas, acantilados, islas, islotes, estuarios y bahías resguardadas, prefiriendo los huecos más que las repisas abiertas (**QN, 2012**).

Alimentación

Son unas excelentes buceadoras especializadas en capturar peces aunque también se alimentan de moluscos, crustáceos y gusanos marinos. En un estudio realizado en Portugal durante el invierno, se observó que su dieta consistía en: sardina común (*Sardina pilchardus*) 66%, anchoveta (*Engraulis encrasicolus*) 7%, pejerrey (*Atherina presbyter*) 2%, aguacioso (*Ammodytes tobianus*) 2%, especies de *Ammodytes* no identificados 22% y especies no identificadas 1%. Según este estudio, la dieta de las alcas está compuesta de peces que son aprovechados para el consumo humano o la industria, por lo que la sobrepesca puede ser la causa del descenso de la población del *Alca torda* (**Rui, 1989**).

Reproducción

Se realiza entre mayo y junio. Crían en colonias, muchas veces cerca de los araos y, generalmente, depositan su huevo en alguna cavidad de las rocas de los acantilados.

La puesta se compone normalmente de 1 huevo cuyo color es muy variado, yendo desde el blanco al verdoso, con manchas y puntos de color marrón y negro. La incubación dura unos 35 días. Las crías permanecen en el nido alrededor de 18 días. En estudios llevados a cabo en Gales-Reino Unido, se demostró que la mayor parte retornaba a la misma colonia para reproducirse, siendo la edad de la primera reproducción entre los 4 y 5 años (**Perrins and Lloyd, 1977**).

En estudios realizados en Noruega, entre los años 1980-2000, se observó que las alcas ponían sus huevos entre el 13 y 30 de mayo en los primeros dos años y luego cada vez con más retraso, entre el 21 de mayo y 2 de junio, comprobándose que tenía una relación directa con la temperatura del entorno. Por otro lado, con los años, el tamaño de los huevos tendía a una disminución (**Barrett, 2001**).

En otro estudio realizado en Canadá, se observó que las aves jóvenes retornaban a los nidos para buscar pareja el primer o segundo año, siendo más tardío con respecto a las alcas europeas, probablemente por la baja densidad poblacional y la afinidad a su lugar de origen (Lavers *et al.*, 2008a).

Además, se observó que el 83% de los ejemplares juveniles regresaban a su colonia para reproducirse y el 97% de los adultos, también. La mayoría de aves que emigra lejos de su colonia, lo hace cuando son expulsadas del grupo siendo juveniles, pudiendo llegar a emigrar incluso desde Escocia hasta Norte América (3210 km) (Lavers *et al.*, 2007).

4.2. Arao común (*Uria aalge*)

Nombre en inglés: *Common Guillemot*

Orden: CHARADRIIFORMES
 Familia: ALCIDAE
 Género: *Uria*

Descripción

Miden entre 38 y 46 cm con una envergadura de 61 a 73 cm.

Pueden llegar a pesar 1000 g (Svensson *et al.*, 2000) (Figura 7).

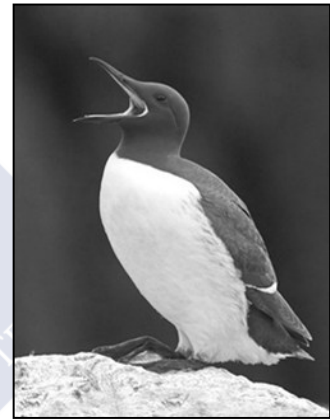


Figura 7. Arao común (*Uria aalge*).

Se asemeja al alca común pero es un poco más grande, tiene la cabeza menos robusta y más puntiaguda, y su pico es más fino, de forma cónica y puntiaguda. No presentan dimorfismo sexual.

El cuello es corto y grueso, su pico es cónico y acaba en una punta afilada; los ojos son pequeños y de color negro, la cola es corta y redondeada. Las alas son cortas; las patas también son cortas de color gris muy oscuro y con los dedos palmeados.

Se localiza en la zona circumpolar ártica, Pacífico y Atlántico norte. En la Península Ibérica es un invernante habitual. Se pueden ver ejemplares durante el invierno en las costas del Cantábrico y de Galicia, y muy raramente en las costas del Mediterráneo. Se les ve, en mayor número, durante los pasos migratorios de octubre a diciembre y de febrero a abril (QN, 2012).

Los araos ibéricos podrían pertenecer a otra subespecie, *Uria aalge ibericus*, aunque es preferible incluirlos dentro de la subespecie *Uria aalge albidus*, cuya población mundial se estima en unos 9 millones de parejas.

En España solamente se distribuye por Galicia. Los últimos núcleos residen en las Islas Sisargas (3 parejas) y en los islotes del Cabo Vilán (9 parejas), ambos en A Coruña (Figura 8). Así mismo, en la parte central de Portugal existe una zona de nidificación en la Isla Berlenga (Peniche).

El descenso de la población en Galicia ha sido muy notable; en los años sesenta la población de araos era de unas 1000-1500 parejas, mientras que en el censo realizado en el año 2003 quedaban solamente entre 3 y 11 parejas (Figura 9).

En España, la especie se encuentra en peligro de extinción, debido a la actividad antropogénica (caza, pesca, vertido del petrolero del *Prestige*) y sobre todo al desplazamiento de algunas especies de peces; los araos, al quedarse sin el alimento que más aprecian, se marchan a otras zonas.



Figura 8. Distribución del arao en la Península Ibérica (Arcos *et al.*, 1995).

Asimismo, en un estudio realizado en 1987, se documentó la desaparición nidificante del arao en la costa suroeste de Galicia (Islas Cíes), manteniéndose solamente una población estival no reproductora de aves inmaduras. Como causas de la desaparición de las aves se han considerado principalmente los derrames de petróleo (56% de las aves recogidas en playa), y las artes de pesca y caza furtiva (Arcos *et al.*, 1995).

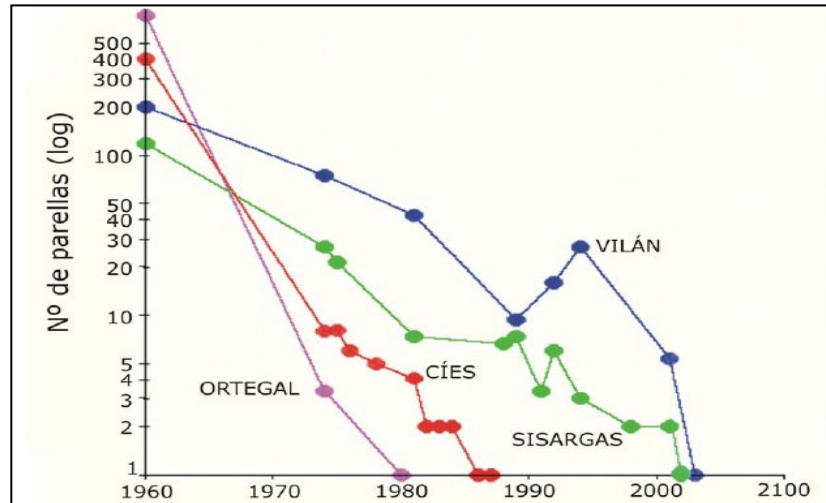


Figura 9. Dinámica poblacional del arao en Galicia (Arcos *et al.*, 1995).

Hábitat

Se encuentran en grandes bandadas en alta mar durante el invierno y se acercan a las costas rocosas, acantilados, islas e islotes en verano para reproducirse. También se les puede ver en los puertos, bahías y en los estuarios.

Es una especie que tiene una mortalidad elevada a causa de la depredación de huevos y polluelos por parte de las gaviotas. A ello se une la pérdida de muchos polluelos si se les molesta o son asustados durante la cría, la falta de alimentación por sobrepesca y la contaminación.

Alimentación

Los araos se alimentan de peces (principalmente arenques y caballas), moluscos, gusanos, algunas algas e incluso en ocasiones medusas.

El arao localiza la presa metiendo la cabeza repetidamente bajo el agua antes de sumergirse: captura con el pico, inmovilizando a su presa con la lengua y unos dentículos situados en el paladar. Utilizan las alas para propulsarse y se sumergen verticalmente (Watanuki *et al.*, 2006).

La profundidad media de las inmersiones está entre los 30 y 50 metros, pudiendo alcanzar los 180 metros. La velocidad de inmersión es de 1.5 m/s a 2 m/s como máximo y su duración de 20 a 119 segundos.

Se alimentan durante el día o en los períodos de crepúsculo, siendo los lugares para pescar a veces muy distantes entre sí, lo que sugiere que tienen un conocimiento de las opciones de alimentación, ya que acostumbran a regresar a los lugares donde obtuvieron alimento.

Reproducción

Tras su llegada a las cornisas de acantilados en primavera, dejan un amplio espacio entre un ave y otra; pero las cornisas se rellenan rápidamente con aves que se empujan mutuamente, para obtener un sitio en el que anidar. Crían en colonias, cerca de las alcas y los cormoranes.

Estas aves no construyen nido. La hembra pone en mayo o junio su único huevo, muy variable en color aunque generalmente con manchas amarillas, pardas o negras, en la roca desnuda. La forma es cónica y tiene el centro de gravedad hacia el extremo más delgado. Suele estar revestido de guano, lo que evita que pueda rodar y caer por el acantilado. La incubación dura unos 34 días. Las crías permanecen en el nido alrededor de 20 días, en caso de perder el primer huevo pueden poner un segundo.

Es un ave longeva, con alta mortalidad juvenil, productividad anual baja y alta supervivencia en la edad adulta, monógama, que acostumbra a permanecer con la misma pareja durante varias temporadas de cría consecutiva.

En estudios realizados sobre dinámica de poblaciones de araos en el Mar del Norte, donde en los últimos años hubo 4 accidentes grandes de vertidos de petróleo, se detectó que como consecuencia de los vertidos habían muerto muchos adultos, lo que provocó que los ejemplares más jóvenes tuvieran mayor éxito de reproducción, generando paradójicamente un aumento en la cantidad de aves (Votier *et al.*, 2008).

4.3. Cormorán moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*)

Nombre en inglés: *European Shag*

Orden: PELECANIFORMES
 Familia: PHALACROCORACIDAE
 Género: *Phalacrocorax*

Descripción

Miden unos 78 cm de longitud. La envergadura puede alcanzar los 110 cm. El peso puede llegar a los 2500 g (Svensson *et al.*, 2000) (Figura 10).

Las hembras son algo más pequeñas que los machos.

Son de color negro brillante con reflejos verdosos y carecen de los tonos marrón bronce que tiene el cormorán grande en la espalda y en las alas.

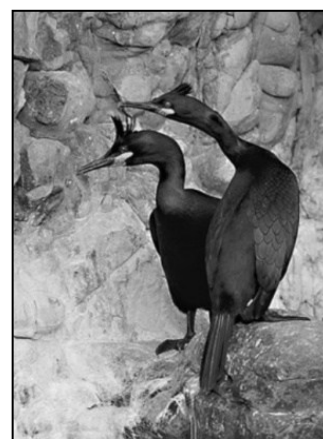


Figura 10. Cormorán moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*).

Los jóvenes tienen el plumaje de un color pardo-grisáceo que es algo más blanquecino por la parte inferior. Tienen los ojos de color azul, una mancha blanca en el mentón y las patas amarillentas.

Se diferencia del cormorán grande por ser de menor tamaño y menos robusto, además, la mandíbula inferior no sobrepasa al ojo, su pico es más delgado, tiene moño y su plumaje es menos oscuro y con menos reflejos verdosos. El cormorán grande tiene una mancha blanca en forma de C, mientras el cormorán moñudo tiene la cara completamente negra y la piel desnuda de debajo del pico es de color amarillo.

Está presente en las costas del Norte de Europa, en la Península Ibérica, en el Norte de África y en las costas e islas del mar Mediterráneo.

En la Península Ibérica es residente habitual; vive en el Atlántico Norte desde la zona templada a la ártica, con poblaciones en España tanto mediterráneas como atlánticas, aunque la mayor parte de las poblaciones nidifican en las Islas Británicas. En la costa Cantábrica, se calcula una población en ascenso de unas 2200 parejas reproductoras (QN, 2012).

En Galicia, la mayor parte de la población se encuentra en las Islas Cíes e Isla de Ons. En Asturias, se calculan unas 250 parejas, la mayor parte de ellas en Cudillero, Coaña, Tapia y Valdés. No se conocen bien las migraciones y desplazamientos, pero durante el invierno se ha observado la aparición de aves procedentes de Irlanda, Inglaterra y la Bretaña francesa, a la vez que la población local realiza un desplazamiento de la costa oriental a la occidental donde son mejores las condiciones de supervivencia meteorológicas, refugiándose en los puertos y bahías cercanos a Peñas (Velandó and Freire, 1999).

Está incluida en el Catálogo de Especies Amenazadas de 1980, y en el Convenio de Berna que la considera especie protegida desde 1979. Sus principales amenazas son la caza furtiva, la recogida de huevos, la pesca accidental y la contaminación del mar por vertidos. La pesca de las especies que le sirven de alimento y la colonización por otras especies también ha influido negativamente en su supervivencia.

Hábitat

Vive en colonias en el litoral rocoso, islas e islotes, bahías y acantilados. Su plumaje permeable permite a los adultos realizar inmersiones de hasta 15 m de profundidad en bajos o zonas de rompientes, mientras que los jóvenes lo hacen en las aguas tranquilas de puertos o bahías. Nunca se adentra más de un kilómetro en el mar ni se aleja más de los 4 o 5 km de la colonia a lo largo de la costa.

A diferencia del cormorán grande ésta es un ave marina que no se encuentra en aguas interiores.

Alimentación

Son unos excelentes buceadores especializados en capturar peces, aunque también se alimentan de pequeños invertebrados marinos. No tienen preferencias por ninguna especie de peces, pudiendo consumir abichón (*Aterina presbiter*), tordo roquero (*Symphodus melops*), margota (*Labrus bergylta*), bacaladilla (*Micromesistius poutassou*) y sardina (*Sardina pilchardus*), entre otras. Después de pescar, es frecuente verlo en postes o promontorios rocosos secando sus plumas al sol (QN, 2012).

Reproducción

Crían en colonias. Forman nidos en las repisas y oquedades, cuevas o resguardos que encuentran. Para ello, utilizan ramas, materia vegetal y algas de los acantilados aprovechando cualquier grieta entre diciembre y julio. La cópula tiene lugar en enero o febrero, y a principios de marzo deposita una única puesta de dos o tres huevos de color azul pálido que tardan un mes en eclosionar, siendo incubados ese tiempo por cualquiera de los miembros de la pareja; los pollos permanecen en el nido alrededor de 60 días. En caso necesario puede realizar una segunda puesta de reposición.

4.4. Alcatraz atlántico (*Morus bassanus*)

Nombre en inglés: *Gannet*

Orden: PELECANIFORMES

Familia: SULIDAE

Género: *Morus*

Descripción

Es un ave marina grande, de unos 95 cm de tamaño y una envergadura de 175 cm. Tiene el cuerpo alargado y las alas notablemente largas y estrechas; la cola es acunada. Los ejemplares adultos son de color blanco con la punta de las alas negras, y presentan color mostaza en la cabeza y el cuello.



Figura 11. Alcatraz atlántico (*Morus bassanus*).

Los juveniles son de color pardo con manchas más claras. El pico es fuerte y de color azulado. Las patas son palmeadas, de color verde con nervaduras verde-amarillentas en los machos y verde-turquesa en las hembras (Svensson *et al.*, 2000) (Figura 11).

Hábitat

Cría en islotes del Atlántico Norte, estando más de las tres cuartas partes de la población mundial en Europa. Tras la reproducción, la mayoría de los ejemplares migran hacia el Sur para invernar, desde el Golfo de Vizcaya hasta África occidental; incluso algunos ejemplares van al Mediterráneo.

El paso post-nupcial principal se produce de finales de junio a noviembre por las costas del Mar del Norte. La mayoría de las aves no permanecen en el Mar del Norte sino que siguen hacia el Sur, hacia África. Los adultos llegan más tarde y se marchan antes que los inmaduros; incluso algunos inmaduros permanecen en las costas españolas durante todo el año.

Alimentación

Se alimentan de peces pelágicos como arenques y caballas. Para pescar, los alcatraces se lanzan al mar desde una altura de 10-40 m en picado totalmente vertical. Llegan a entrar en el agua a 100 km/h y bajo el agua se desplazan con las patas, alcanzando los 15 m de profundidad (Harrison, 1985).

Reproducción

Crían en colonias. Empiezan a concentrarse en febrero en los acantilados donde se reproducirán, pero es en abril cuando comienzan a preparar el nido, el cual es construido por ambos progenitores, aportando algas, hierbas y plumas. La puesta consiste en un solo huevo grande, de unos 8 cm, que es incubado durante 42-45 días. Para la incubación mantienen el huevo sobre sus membranas interdigitales que durante la época de cría son especialmente cálidas.

La incubación la realizan, también, ambos progenitores, alternándose cada 24 horas aproximadamente. Este relevo se produce tras toda una ceremonia de saludo entre los padres, el ave que llega trae nuevo material para el nido y ejecuta un largo movimiento con la cabeza. El ave que se va lo hace dando saltos alrededor de la zona de anidación, hecho que no es tomado como agresivo por las aves que nidifican en las proximidades a pesar de la extrema cercanía entre nidos de parejas vecinas. Sin embargo, cuando ambos progenitores dejan el nido solo, aunque sea por un corto espacio de tiempo, este nido es deshecho y construido de nuevo por otros individuos.

Los pollos recién nacidos dependen totalmente de sus padres. Nacen desnudos y ciegos, son de color totalmente negro y van clareando a partir del décimo día, en que empieza a salirles el plumón blanco; a partir de ese momento ya no necesitan el calor de los padres.

Cuando tienen unos 75 días de vida, los padres dejan de alimentarlos. En ese momento, estos jóvenes pesan unos 4 kg (1 kg más que sus padres); permanecen aún algo más de tiempo en el nido

y, aunque no están todavía totalmente capacitados para volar, se precipitan al mar, donde permanecerán unos 10 días flotando hasta que comienzan a pescar y a realizar sus primeros vuelos (QN, 2012).

4.5. Gaviota patiamarilla (*Larus michahellis*)

Nombre en inglés: *Yellow-legged gull*

Orden: CHARADRIIFORMES

Familia: LARIDAE

Género: *Larus*

Descripción

Tienen un tamaño entre 52 y 60 cm; con una envergadura de 120-140 cm. Se reconocen 3 subespecies: *L. m. michahellis*, *L. m. atlantis* y *L. m. armenicus*, que básicamente se diferencian en el tamaño, las proporciones, la tonalidad de las alas y dorso, y el desarrollo de la muda (QN, 2012) (Figura 12).



Figura 12. Gaviota patiamarilla (*Larus michahellis*).

La gaviota patiamarilla es una gaviota de gran tamaño que se caracteriza por la tonalidad gris media de las partes superiores, más oscura en la subespecie *atlantis*. Esta especie sustituye a la gaviota argéntea y a la gaviota sombría en el área del Mediterráneo. Comparándola con otras gaviotas grandes, se caracteriza por presentar una estructura bastante robusta, con una cabeza bastante plana y frente huidiza, un pico masivo y ganchudo, y unas patas largas.

Alimentación

Se alimenta principalmente en aguas costeras, pero también acude a vertederos y puertos. Su dieta incluye principalmente peces, pero también invertebrados, pollos y huevos de otras aves, así como carroña y roedores. Las técnicas de alimentación en el agua son por zambullidas desde el aire o desde la superficie del agua, mientras que en tierra se dedica a picotear lo que queda a la vista. También practica el cleptoparasitismo, y el seguimiento a los barcos.

Reproducción

Utiliza como lugares de reproducción acantilados costeros e islas, así como humedales costeros e interiores, e incluso estructuras urbanas y portuarias, formando colonias mono-específicas. Se

conocen casos de hibridación con gaviota sombría, gaviota cáspica y gaviota argétea. Construye el nido a base de ramitas, hierbas, plumas y detritos, donde pone de 1 a 4 huevos de color marrón a verde azulado con manchas oscuras (dimensiones medias de 70 x 48 mm) y 92g de peso, que serán incubados durante 25-33 días. Los pollos volarán al cabo de 40-45 días desde la eclosión. Alcanzan la madurez sexual en su cuarto año de vida.

En 2009, la población invernante en España fue estimada en 228 599 individuos, repartidos por las costas ibéricas y ambos archipiélagos, siendo muy escasa en zonas del interior.

Se trata de una especie paleártica sur-occidental cuya población se estima en unas 250 000 parejas, de las cuales 15 000 pertenecen a la subespecie *atlantis* que ocupa los archipiélagos de Macaronesia; unas 25 000 pertenecen a la subespecie *armenicus* que cría en Armenia y Turquía central, y el resto a la *michahellis* que ocupa la cuenca Mediterránea, las costas atlánticas francesas, portuguesas, marroquíes y españolas. Desde mediados del siglo pasado, se encuentra en expansión colonizando distintos lugares del centro de Europa.

En el año 2009, la población reproductora española era de un mínimo de 126 449 parejas, de las cuales 7000 lo hacían en Canarias perteneciendo a la subespecie *atlantis*, y el resto a la subespecie *michahellis*, que se repartía de forma equitativa entre las costas Mediterránea y Atlántica, siendo el contingente del interior peninsular anecdótico, no llegando a las 100 parejas.

A nivel global, atendiendo a los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), se considera una especie de “preocupación menor”, debido a su amplia distribución y a la tendencia positiva de su población. Esta misma consideración se aplica en España, debido al tamaño de su población, a la tendencia positiva de la misma y a su extensa distribución.

Está estrechamente relacionada con *L. argentatus*, con la cual en ocasiones fue considerada coespecífica. Estudios moleculares han permitido separarla de *L. argentatus*, *L. fuscus* y *L. cachinnans*. Existe una sistemática muy compleja en cuanto a sus subespecies, de forma que hasta el año 2009, la *armenicus* había sido considerada como una especie distinta. La forma “*lusitanius*” descrita para las poblaciones del Norte y Noroeste de la Península Ibérica, aún no está aceptada, siendo necesarios estudios más específicos (QN, 2012).

4.6. Frailecillo atlántico (*Fratercula arctica*)

Nombre en inglés: *Puffin*

Orden: CHARADRIIFORMES

Familia: ALCIDAE

Género: *Fratercula*

Descripción

Especie protegida, catalogada en el Real Decreto 439/1990 - Anexo II.



Figura 13. Frailecillo atlántico (*Fratercula arctica*).

Los machos suelen ser algo más grandes que las hembras. Miden unos 30 cm de longitud. La envergadura puede alcanzar los 60 cm. El peso puede llegar a los 390 g (Svensson *et al.*, 2000) (Figura 13).

Por la parte superior son de color pardo negro, incluyendo la frente, el píleo y la nuca. Tienen una especie de collar negro en la zona delantera con forma de V invertida en su parte inferior. La cara es de color blanco o grisácea y en ella se encuentra un pequeño ojo negro con un anillo periocular de color naranja intenso, el cual a su vez está metido dentro de un dibujo azul oscuro con forma de triángulo isósceles cuya base está por debajo del ojo. Desde el vértice de ese triángulo más alejado del pico, parte una delgada línea oblicua negra que se dirige hacia la nuca. Por la parte inferior son de color blanco. El cuello es corto y grueso (Prado Comesaña, 2007).

El pico es ancho, tiene forma triangular y está aplanado lateralmente. En verano le crece una capa córnea y sus colores se hacen más intensos. Es de color naranja intenso, con un dibujo en forma de triángulo en su base de color azul oscuro rodeado de una franja amarilla. Tiene, también, unas líneas verticales de color rojo y amarillo, y con forma de paréntesis. En las comisuras tiene unas excrecencias carnosas de color naranja.

La cola es corta y redondeada. Las alas son cortas, y de color negro por arriba y grises por debajo. Las patas son cortas, de color naranja y con los dedos palmeados y las uñas negras. Los jóvenes tienen el pico pequeño y de color gris oscuro con rayas rojas.

Es una especie migratoria que se localiza en las costas europeas y americanas del Océano Ártico y del Atlántico Norte. En la Península Ibérica se puede ver algún ejemplar durante el invierno en las costas del Cantábrico y de Galicia, siendo escasa en las costas andaluzas y en el Mediterráneo. Es más abundante durante los pasos migratorios de octubre a diciembre y de marzo a abril, siendo raro verla en verano.

Los frailecillos tienen rutas migratorias que no son estables de una población a otra. Estudios recientes suponen que existe una migración individual probablemente adquirida por los individuos como experiencia de migraciones anteriores con los progenitores. Sin embargo, no existen patrones definitivos de migración de estas aves. Los frailecillos son capaces de descansar en alta mar y de alimentarse de los peces que estén a su disposición, siendo considerada por ello un ave pelágica (**Guilford *et al.*, 2011**).

Hábitat

En invierno se encuentran en alta mar y salen poco a tierra, pero cuando lo hacen es para criar en los acantilados más escarpados de las costas e islas con hierba.

Alimentación

Se alimentan de peces, moluscos y crustáceos. Es muy común verlos durante la época de cría con un montón de pequeños peces colgando a los lados del pico.

Reproducción

Esta ave se reproduce de mayo a agosto y cría en colonias, para lo que cava con su pico un túnel que acaba en una madriguera bajo tierra, que a su vez cubre con hierbas. En ocasiones utiliza las madrigueras de los conejos o de las pardelas. La edad de inicio del período reproductivo es a los 5 años (**Perrins and Lloyd, 1977**).

La puesta se compone de 1 huevo de color blanco sucio o grisáceo con un punteado de color negro o morado. La incubación dura unos 40 días. Las crías permanecen en el nido alrededor de 40 días, hasta que los padres dejan de alimentarlos y los abandonan, momento en el cual salen de la madriguera y se lanzan al mar (**QN, 2012**).

Los estudios realizados en Noruega indican que los frailecillos han retrasado la puesta de huevos en ese país incluso hasta en 2 semanas, lo que podría estar relacionado con los cambios de temperatura que se han registrado en los últimos años, (**Barrett, 2001**).

5. TOXICIDAD DEL FUEL EN AVES MARINAS

Los efectos nocivos ocasionados en la intoxicación por fuel en aves marinas se pueden clasificar en:

1. Efectos inmediatos externos.
2. Toxicidad por la ingestión de fuel.
3. Efectos a largo plazo.

5.1. Efectos inmediatos externos

La contaminación con fuel del plumaje de las aves supone la pérdida de la capacidad de aislarse del agua, de la flotabilidad y de la habilidad para volar y buscar comida. Además, el plumaje sucio y mojado produce un incremento de los requisitos termorreguladores, con el consecuente incremento de la tasa metabólica basal. Para varios autores, la impregnación externa con fuel y, como consecuencia, la hipotermia, el agotamiento y la inanición, suelen causar el mayor porcentaje de bajas tras un vertido (**Fry and Lowenstine, 1985; USGS, 1999**).

Sin embargo, existen evidencias de que las gaviotas tienen una habilidad para digerir alimentos no usuales en sus dietas y tener un grado de resistencia en sus sistemas digestivos mayor a los de otras aves marinas; estas características son importantes en la limpieza de petróleo del plumaje. En observaciones realizadas en gaviotas durante 30 años, se pudo comprobar que casi la totalidad de las gaviotas que se limpiaron por sí mismas del petróleo del plumaje lograron sobrevivir y ser exitosamente reproductivas (**Camphuysen, 2011**).

El petróleo, inclusive en pequeñas cantidades apreciables en agua de mar provoca una alteración de la microestructura del plumaje, poniendo en evidencia una relación entre las descargas realizadas por las plataformas petroleras y la mortalidad de aves marinas (**O'Hara and Morandin, 2010**).

5.2. Toxicidad por la ingestión de fuel

La ingestión de fuel al intentar limpiarse el plumaje produce irritación intestinal, e incluso hemorragias con sangrado dentro de la luz intestinal. Dependiendo de la composición química del fuel ingerido, se han descrito distintas alteraciones a nivel digestivo. Así, por ejemplo, vertidos con alto contenido en naftalenos e hidrocarburos aromáticos (como el vertido del *Prestige*) producen deterioro de la mucosa intestinal, incluyendo una alteración en el transporte sodio-agua que provoca deshidratación y estrés hídrico (**Fry and Lowenstine, 1985**). El deterioro en el

funcionamiento de la glándula de la sal⁷ contribuiría a la alteración de la función osmorreguladora (USGS, 1999).

Diversos estudios que evalúan la toxicidad del petróleo en el sistema inmune demostraron que el número de leucocitos (especialmente linfocitos) están disminuidos en la circulación y en los principales órganos linfoides (bazo y bolsa de Fabricio); a su vez, la hiper celularidad de la médula ósea junto con el aumento de la eritropoyesis demuestran una respuesta celular (producción de eritrocitos) a la anemia hemolítica. Las infecciones bacterianas y fúngicas frecuentes en los centros de rescate sugieren alteraciones del sistema inmune; de hecho, la mala absorción de nutrientes y el daño de la mucosa intestinal determinan por si mismas una inmunosupresión. También se observó que los elementos químicos del petróleo provocan concentraciones anómalas y aceleración del metabolismo de los corticosteroides adrenales (Briggs *et al.*, 1997; Briggs *et al.*, 1996; Rattner *et al.*, 1984).

En un estudio llevado a cabo tras la realización de la necropsia en 67 ejemplares de arao común recogidos en las costas de Bélgica y Holanda durante el invierno de 1993-1994 (zona de alta contaminación por petróleo proveniente de la industria), las observaciones más frecuentes fueron gastroenteropatía aguda hemorrágica y caquexia, y en un 36% de las aves recogidas se halló fuel en el intestino. También se observaron úlceras gástricas agudas y depósitos de uratos (Jauniaux *et al.*, 1998).

En cuanto a los hallazgos macroscópicos asociados a la ingestión de crudo, Fry y Lowenstine (1985) observaron múltiples focos de necrosis e inflamación en la parte superior del tubo digestivo en siete ejemplares de arao común que procedían de un vertido accidental de fuel con las mismas características que el vertido del *Prestige* (*Bunker C oil*). Describen también depósitos renales de uratos característicos de la gota visceral y signos de necrosis renal.

La absorción de fuel con gran cantidad de hidrocarburos aromáticos produce también anemia hemolítica con formación de cuerpos de Heinz (Leighton, 1985, 1986). En estudios experimentales, el grupo de Leighton indujo la aparición de anemia hemolítica en aves marinas a los 4-5 días del comienzo de la ingestión de crudo concluyendo que, la presencia de cuerpos de Heinz, es una evidencia clara de toxicidad primaria del fuel sobre los hematíes, producida por un mecanismo intravascular de hemólisis por oxidación. Otros autores también confirman que los hematíes son el primer objetivo de la toxicidad del crudo (Yamato *et al.*, 1996).

Tras el vertido accidental de 180 toneladas de crudo procedente de Kuwait, ocurrido en Portland, Victoria (EE.UU.), McOrist y Lenghaus (1992) realizaron la necropsia de veintidós pingüinos

⁷ Se encuentran en aves y reptiles y se encargan de secretar un líquido muy concentrado en sales. Ocupa depresiones superficiales en el cráneo por encima de los ojos.

expuestos al fuel, encontrando un moteado marrón-rojizo y pequeños focos puntuales blanquecinos en el hígado (**McOrist and Lenghaus, 1992**).

Tras la necropsia de 27 patos muertos como consecuencia del vertido causado por la colisión de un petrolero en el puerto de Tomakomai (Japón), no se observaron hallazgos significativos, ni evidencias de hemorragia interna o externa; tan sólo tres de los 27 patos presentaban una coloración hepática verde oscura (**Yamato et al., 1996**).

Tras el examen *postmortem* de 11 aves (*gallinas de agua*) contaminadas con crudo en el río San Gabriel en Huntington Beach, California, por la rotura de un oleoducto, se observó enteritis, hepatitis, necrosis hepática y un pigmento sugestivo de neumoconiosis en el pulmón (**Newman et al., 2000**).

En el hígado de aves marinas afectadas por vertidos, también se ha observado la presencia de degeneración hepática e infiltración grasa con incremento de actividad de las enzimas hepáticas. En cuanto a las lesiones en riñón, se ha descrito gota visceral y necrosis renal focal tras la contaminación por fuel (**Szaro et al., 1978; Szaro et al., 1981**).

Los efectos sub-agudos provocados por el petróleo del *Prestige* en gaviotas patiamarillas expuestas durante 17 meses después del accidente, ponen de manifiesto la correlación con los niveles más elevados de HAPs frente a las gaviotas de zonas no afectadas por el petróleo; además, en estas gaviotas afectadas, se observaron mayores actividades enzimáticas AST y GGT, siendo indicadores de daño renal y hepático (**Alonso-Álvarez et al., 2007a**). Para comprobar estos resultados, se administró a las aves, de forma experimental, fuel proveniente del *Prestige* y a un grupo control, aceite vegetal, coincidiendo los resultados obtenidos, de forma general, con los evaluados en el estudio anteriormente citado; sin embargo la actividad de la GGT fue opuesta; estos resultados demuestran que las actividades de estas enzimas varían según se trate de formas de intoxicación sub-aguda o aguda (**Alonso-Álvarez et al., 2007b**).

Los estudios llevados a cabo en peces después de los vertidos, ponen de manifiesto en muchos casos el aumento de la actividad enzimática del citocromo p-450, p-4501A (CYP1A) y los compuestos aromáticos fluorescentes biliares (CAB); todos ellos indican un daño debido al petróleo; sin embargo la mayoría de los HAPs encontrados en petróleo son de 2 o 3 anillos, y estos no afectan de manera severa al citocromo p-450. Los HAPs al cabo de un año ya no son apreciables en el medio ambiente debido a su evaporación, pudiendo tener resultados falsos de desintoxicación; así muchos autores sugieren el análisis de los niveles de citocromo p-450, CYO1A y CAB de forma rutinaria para poder compararlos con los niveles posteriores a derrames de petróleo (**Lee and Anderson, 2005**).

5.3. Efectos a largo plazo

Los efectos de los derrames de petróleo dependen de varios factores, tales como parámetros físico-químicos del petróleo, características del medio afectado (procesos físicos, químicos y biológicos), evaporación, disolución, dispersión, emulsión, foto-oxidación, biodegradación y sedimentación; la relación de todos estos fenómenos va a ser importante en el estudio del daño a los organismos marinos, en especial a las aves, que por estar en la parte superior de la cadena trófica van a bioacumular, y debido a la ingesta de organismos del medio, van a biomagnificar los contaminantes del petróleo (**Rogowska and Namieśnik, 2010**).

Las aves marinas adultas expuestas directamente al fuel pueden sufrir efectos residuales a largo plazo. El estudio de las aves marinas como bioindicadores debe de realizarse conjuntamente entre varios especialistas, y debe afrontarse con una metodología de investigación minuciosa para la obtención de mejores resultados de investigación (**Mallory et al., 2010**).

Se considera que el daño hepático puede ser permanente, o de recuperación muy lenta, y que lesiones renales como la necrosis tubular, podrían ocasionar un desequilibrio hidroelectrolítico también permanente (**Fry and Lowenstine, 1985**).

En Sudáfrica, se rehabilitaron pingüinos afectados por un vertido en 1981, observándose que sólo el 20% de ellos tuvo éxito reproductivo, lo que indica que los problemas a largo plazo de la contaminación en aves marinas son de difícil pronóstico (**Fry and Lowenstine, 1985**). Entre otros, se ha descrito una disminución en la puesta de huevos, una reducción de la fertilidad, una disminución en la producción de esperma y efectos embriotóxicos tales como la disminución del crecimiento embrionario, malformaciones y un menor número de crías viables (**USGS, 1999**). Asimismo, las aves expuestas a la contaminación durante la temporada reproductiva, pueden transferir dosis letales del contaminante de su plumaje a los huevos durante la incubación (**Fry and Lowenstine, 1985**).

En varios estudios experimentales en embriones de pollo para demostrar la embriotoxicidad del crudo procedente de la *Prudhoe Bay*, tras aplicar pequeñas cantidades de crudo en la superficie de los huevos en distintos días de incubación, los embriones podían aparecer muertos, o con lesiones graves tales como necrosis hepática, mineralización renal y edema subcutáneo (**Albers, 1978; Couillard and Leighton, 1989, 1990a, b**).

Los estudios poblacionales realizados en la isla Príncipe William Sound en Alaska, en una zona afectada por el vertido del petrolero *Exxon Valdez*, mostraron que la población de aves afectada no solo no se había recuperado 9 años después del accidente, sino que seguía disminuyendo (**Lance et al., 2001; Peterson, 2001**). En una revisión bibliográfica llevada a cabo en 2006 (17 años después

del accidente), se mostró que los ecosistemas estaban recuperados de los impactos del petróleo (**Harwell and Gentile, 2006**); no obstante, recientes estudios han puesto de manifiesto el aumento de la actividad del CYP1A en patos arlequines (*Histrionicus histrionicus*), concluyendo que aún 20 años después del accidente se observaron las consecuencias (**Esler et al., 2010**); de igual manera se hizo una observación similar en porrones islándicos de la misma zona (*Bucephala islandica*) (**Esler et al., 2011**).

En estudios realizados en el golfo de Nueva York, una zona que ha sido importante puerto naval durante la Segunda Guerra Mundial, se observaron gaviotas y charranes que presentaban niveles tóxicos de cadmio, plomo y mercurio (**Burger and Gochfeld, 2000a; Burger et al., 1992**), concluyendo que en aves marinas existe una contaminación ambiental por estos metales (contaminación de origen antropogénico); estos mismos autores también estudiaron los niveles de metales pesados en las costas de Hawai concluyendo que pueden existir diferencias entre las distintas especies estudiadas, como el caso del charrán blanco y albatros de patas negras.

Las especies de aves más afectadas por el vertido del *Prestige* han sido el arao común (*Uria aalge*) (52%), frailecillo atlántico (*Fratercula arctica*) (17%), alca común (*Alca torda*) (16%), gaviota patiamarilla (*Larus cachinnans*) (3%), alcatraz atlántico (*Morus bassanus*) (3%), cormorán moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*) (2%) y otras especies (7%) (**SEO/BirdLife, 2003**).

Las especies de arao común, frailecillo atlántico y alca común, pertenecientes a la familia *Alcidae* (álcidos), tienen sus mayores colonias de reproducción en el norte de Europa. Cuando finaliza la época de cría, emigran hacia el sur para invernar. La costa atlántica ibérica y el mar Cantábrico son lugares de paso de estas aves durante su migración, aunque algunas de ellas se pueden quedar a pasar el invierno. Los efectos negativos de la intoxicación por fuel sobre la reproducción, pueden afectar gravemente a la recuperación de las poblaciones de aves marinas con un bajo potencial reproductivo, como es el grupo de los álcidos, cuyas especies tan sólo ponen un huevo al año (**Svensson et al., 2000; Votier et al., 2005**). Por otra parte, estudios realizados en paños europeos (*Hydrobates pelagicus*) afectados por el *Prestige* probaron que estas aves evitan el proceso reproductivo como respuesta para la supervivencia (**Zabala et al., 2011**).

Respecto a las aves marinas en Galicia, existen estudios sobre la contaminación de aguas marinas por metales pesados en las Rías gallegas (**Cobelo-García and Prego, 2003; Pérez-López et al., 2003; Pérez-López et al., 2006; Pérez López et al., 2004; Pérez López et al., 2003**), pero son pocos los llevados a cabo sobre la contaminación de estos metales procedentes del petróleo y ninguno que demuestre la relación entre su presencia y posibles lesiones histopatológicas. Los metales pesados presentes en el medio marino, tales como cadmio, mercurio y plomo, han demostrado su toxicidad a bajas concentraciones. En cambio, otros como el cromo, hierro,

manganeso, zinc, etc. a pesar de ser biológicamente esenciales, pueden llegar a ser tóxicos a concentraciones elevadas (**Burger *et al.*, 2007b; Coppock and Dziwenka, 2011; Overgaardnielsen and Runedietz, 1989**).

Algunos investigadores han tratado el impacto de la contaminación marina por metales sobre aves marinas (**Otero Pérez, 1998**), concretamente el mercurio sobre gaviotas patiamarillas en las Islas Cíes. Las aves marinas constituyen el grupo de vertebrados más afectados por los vertidos de petróleo, presentando diversas patologías ligadas a la pérdida de la capacidad repelente de sus plumas al agua tras la impregnación, lo cual se agrava por la ingestión-inhalación de fuel, dada la elevada toxicidad de sus componentes, entre ellos de los metales pesados. Otros autores estudiaron la bioacumulación de dichos metales en el hígado y riñón de aves marinas del Océano Atlántico canadiense, llegando a asociar histológicamente el daño tisular en estos órganos con los niveles elevados de metales pesados (**Elliott and Scheuhammer, 1992**). Sobre esos mismos órganos, también se ha estudiado el contenido de vanadio en aves marinas petroleadas en la Costa Atlántica francesa por el accidente del *Erika*, determinando que las concentraciones en hígado y riñón de este elemento no son biomarcadores apropiados para la determinación de contaminación de vanadio (**Kammerer *et al.*, 2004**).

Los protocolos para evaluar la calidad sanitaria del pescado están diseñados desde la perspectiva de los HAPs, sin embargo, el contenido de metales pesados también debería tenerse en cuenta para hacer una evaluación real del riesgo toxicológico de ingerir alimentos contaminados y evaluar la mejora del medio ambiente (**Gohlke *et al.*, 2011**).

Así pues, el mundo científico es consciente de que la contaminación ambiental por metales pesados constituye una amenaza para la supervivencia y reproducción de las poblaciones de aves marinas. A través del estudio de los cadáveres de aves petroleadas se puede obtener una gran cantidad de información que permite profundizar en el conocimiento y el desarrollo de medidas más eficaces para mejorar su conservación.



II. OBJETIVOS



Tras la revisión bibliográfica exhaustiva acerca de importantes vertidos accidentales de petróleo en el mar, es notoria la escasez de artículos científicos sobre la posible intoxicación de aves marinas por elementos químicos (algunos de ellos metales o metaloides) contenidos en el fuel y su relación con las lesiones histopatológicas que puedan explicar la causa de la muerte de un número tan elevado de ejemplares.

Es conocido el efecto tóxico de componentes del fuel, en su mayoría hidrocarburos aromáticos policíclicos, sobre los hematíes provocando anemia hemolítica. Sin embargo, en la bibliografía consultada, la mayoría de las aves con hemólisis no mueren, por lo que se desconoce realmente qué otros agentes químicos pueden intervenir y el alcance de todos los órganos "diana" que puedan sufrir el efecto tóxico debido a la contaminación externa (impregnación externa) o interna (ingestión, inhalación) con petróleo. Asimismo, no existen publicados estudios epidemiológicos que relacionen los niveles de elementos químicos con la impregnación externa y/o ingestión de petróleo y las lesiones microscópicas observadas, ni su relación con la especie de ave marina afectada, sexo y comportamiento etológico. Parece claro que las aves que han ingerido grandes dosis de fuel y que son capaces de superar la fase aguda de 2 ó 3 días, sobreviven a pesar de la intensa anemia hemolítica. Durante este período agudo, el único tratamiento actual es general, y está orientado a la eliminación externa del tóxico y/o a paliar los síntomas. Un buen diagnóstico toxicológico que permita conocer la relación entre el agente etiológico y los efectos histopatológicos causados, sería un primer paso para que el/la veterinario/a clínico/a elabore estrategias terapéuticas que ayuden al animal a superar esa fase aguda y crítica que, lamentablemente, podría aparecer de nuevo en futuros vertidos de petróleo.

Por todo ello, en el presente trabajo se han planteado como objetivos:

- El estudio epidemiológico de los efectos tóxicos de la contaminación por fuel oil en un total de 429 aves marinas muertas entre los meses de diciembre de 2002 y febrero de 2003 en las costas gallegas, relacionando los niveles de impregnación externa y/o ingestión de petróleo con la especie de ave, sexo y comportamiento etológico.
- El estudio histopatológico e histoquímico de las muestras recogidas, con el fin de determinar los órganos "diana" del efecto tóxico de los componentes del petróleo.
- El estudio epidemiológico, histopatológico, histoquímico y ultraestructural de la patología espontánea en aves marinas, no relacionada con el vertido tóxico (enfermedades infecciosas, parasitaciones, procesos degenerativos, etc.).
- El estudio analítico comparativo de los niveles de doce elementos químicos procedentes del fuel vertido por el buque *Prestige*: arsénico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), hierro (Fe), manganeso (Mn), mercurio (Hg), plomo (Pb), selenio (Se),

vanadio (V) y zinc (Zn), entre muestras de fuel oil y de órganos (hígado y riñón) obtenidos de cadáveres de aves marinas petroleadas.

- La valoración del contenido de los elementos químicos estudiados en las aves marinas petroleadas en función de la fecha de recogida, órgano afectado, especie, sexo y presencia o ausencia de parásitos.
- El estudio de las correlaciones establecidas entre los niveles de los elementos químicos obtenidos en el hígado y riñón dado que, desde el punto de vista toxicológico, son los órganos más vulnerables.
- El estudio de las correlaciones establecidas entre las lesiones histopatológicas y las concentraciones de los elementos químicos en hígado y riñón a fin de obtener un diagnóstico clínico acertado que permita establecer estrategias terapéuticas específicas en las aves marinas petroleadas.

Teniendo en cuenta que los cadáveres de las aves marinas objeto de este estudio pertenecían a 24 de los Concellos gallegos más afectados por la marea negra (Ortigueira, Cariño, Cedeira, Valdoviño, Ferrol, Ares, Cabanas, Pontedeume, Oleiros, A Coruña, Laracha, Carballo, Malpica, Ponteceso, Laxe, Camariñas, Muxía, Cee, Corcubión, Carnota, Muros, Ribeira, Pobra do Caramiñal y Boiro), los resultados que puedan derivarse de su desarrollo serán altamente representativos del impacto del vertido del *Prestige* en las costas Atlántica y Cantábrica, ya que, hasta el 14 de febrero de 2003, el 50% de todas las aves afectadas por el vertido (vivas y muertas) se recogieron en las costas gallegas.



III. MATERIAL Y MÉTODOS



1. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO

1.1. Necropsia de las aves

Entre el 10 de diciembre del 2002 y el 25 de febrero del 2003, se realizó la necropsia de 429 aves marinas en el Servicio de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela–Campus Lugo.

Las aves procedían de los Concellos gallegos más afectados por la marea negra, desde Estaca de Bares hasta la Costa de la Muerte (Ortigueira, Cariño, Cedeira, Valdoviño, Ferrol, Ares, Cabanas, Pontedeume, Oleiros, A Coruña, Laracha, Carballo, Malpica, Ponteceso, Laxe, Camariñas, Muxía, Cee, Corcubión, Carnota, Muros, Ribeira, Pobra do Caramiñal y Boiro), lo cual hace que el muestreo y los resultados objeto de este estudio puedan ser representativos del impacto ambiental del vertido de fuel del buque *Prestige* sobre la población de aves marinas.

Las aves fueron recogidas por voluntarios en las diferentes playas, y posteriormente enviadas al Centro de Recuperación de Fauna Salvaje en Santa Cruz de Liáns-Oleiros (A Coruña), desde donde fueron empaquetadas y remitidas, diariamente, a la Facultad de Veterinaria de Lugo.

Para la realización de la necropsia se agruparon y separaron las aves por especies y se colocaron sobre un plástico que servía para evitar las manchas de fuel y para recoger posteriormente los restos del cadáver y proceder a su congelación, y posterior devolución al centro de origen (Figura 14).



Figura 14. Aves marinas afectadas por el fuel del petrolero *Prestige* en la sala de necropsia de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela - Campus Lugo.

Una vez allí, la entonces Consellería de Medioambiente de la Xunta de Galicia se encargó de la destrucción de estas aves, sin generar residuos contaminantes para el medio ambiente.

A los cadáveres se les practicó una necropsia reglada que comenzaba con la inspección externa, determinación del desarrollo músculo-esquelético y reserva de grasa, características del plumaje y grado de impregnación externa con fuel, examen de las alteraciones en la piel y de las alteraciones presentes en los orificios naturales: ojos, boca, opérculo auditivo, narinas y cloaca, y examen de la mucosa oral y paladar (Figura 15). Tras la apertura de las cavidades internas, se llevó a cabo la inspección sistemática de todos los órganos internos, describiendo todas las lesiones macroscópicas observadas, anotando especialmente la presencia o ausencia de fuel en el tubo digestivo y el sexo de las aves. Se tomaron fotografías digitales de todas las lesiones observadas mediante una cámara digital *Olympus E-20p*.



Figura 15. Inspección externa de un ave marina afectada por el petróleo, observándose la impregnación en una de las patas.

Durante el examen *postmortem* se determinó la especie, para lo cual se tuvieron en cuenta características fenotípicas como el tamaño de las aves y de las alas, el color y la forma del pico, el color del plumaje y de las patas, etc.

Para clasificar el grado de impregnación externa con fuel, se establecieron 3 categorías de aves considerando como criterio la extensión de superficie corporal impregnada. Así, se clasificaron como:

- *Aves limpias o poco manchadas*: aquellas que presentaban un aspecto externo del plumaje aparentemente normal, con la presencia de manchas muy pequeñas.
- *Aves manchadas*: aquellas que presentaban manchas de fuel más grandes, pero que todavía mantenían la mayoría de la superficie corporal libre de fuel.
- *Aves muy manchadas*: aquellas que presentaban fuel en la mayor parte de la superficie corporal, pudiendo incluso estar totalmente cubiertas.

Durante la necropsia de las aves marinas petroleadas, se observó que gran cantidad de ellas estaban parasitadas, procediendo a la evaluación de la incidencia de la parasitación por los nematodos intestinales detectados, puesto que hay pocas ocasiones en las cuales un equipo de investigación puede disponer de un número tan elevado de aves salvajes para estos estudios (429 aves de diferentes especies). Los parásitos encontrados en las aves se aislaron y procesaron para determinar su especie.

1.2. Histopatología

En el servicio de Anatomía Patológica se llevó a cabo el estudio histopatológico de las muestras de tejidos recogidas durante la necropsia, con el objetivo de determinar la causa de la muerte así como las implicaciones etiopatogénicas de la ingesta masiva de fuel en la mayoría de aves, aplicando la siguiente metodología:

Durante la necropsia de las aves marinas se recogieron muestras de diversos órganos: hígado, riñón proventrículo, molleja, intestino delgado, ovario, músculo pectoral, pulmón y bazo para su posterior estudio. Una proporción importante de los cadáveres mostraron signos de autólisis muy avanzada que, si bien permitían un estudio macroscópico de lesiones, la identificación de la especie, la determinación de sexo, la presencia/ausencia de fuel en el aparato digestivo o el grado de contaminación externa, etc., no eran viables para el estudio microscópico; por ello, de las 429 aves recibidas sólo se consideraron para el estudio histopatológico las muestras de 148 aves que se encontraron en buen estado de conservación y sin signos macroscópicos de autólisis.

Una vez realizado el procesado histológico, que se describe más adelante, los tejidos de 18 aves mostraron lesiones autolíticas microscópicas que imposibilitaron su estudio adecuado, por lo que tuvieron que ser descartadas, quedando al final disponibles muestras de tejidos de 127 aves de diferentes especies.

Para los estudios de microscopía óptica, las muestras recogidas en la necropsia se fijaron en solución de Bouin alcohólico durante 24 horas y a continuación se mantuvieron en alcohol de 70° hasta su inclusión en parafina, para extraer el ácido pícrico de la solución fijadora.

La inclusión en parafina se llevó a cabo en un inclusor automático ThermoShandon CITADEL 2000. Para esta inclusión, las muestras se deshidrataron en concentraciones crecientes de etanol (70° a 100°), se incubaron en dos soluciones de xileno (100%) y se embebieron en parafina *Gurr* o *Vogel* con punto de fusión 56-57 °C. Los bloques de parafina se confeccionaron en un centro de inclusión de tejidos Leica EG 1150H. Los bloques de parafina con las muestras se cortaron en un micrótopo *Leica RM 2115* en secciones de 4-5 micras de grosor. Tras desparafinar en xileno e

hidratar las secciones en concentraciones decrecientes de etanol, estas se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (Hematoxilina de Harris) para el estudio histopatológico de rutina.

Las muestras de tubo digestivo (proventrículo, molleja e intestino) también se tiñeron con la técnica de Gram, para la identificación de bacterias en la luz intestinal.

1.3. Estudio Histoquímico

Las muestras de bazo, hígado y riñón de las aves se tiñeron con la tinción histoquímica de Perls⁸. Esta técnica se utiliza para detectar el hierro que se localiza en las células en forma de gránulos de hemosiderina que es insoluble, pero no detecta el hierro contenido en la ferritina que es hidrosoluble. La tinción de Perls (o reacción del azul de Prusia) se basa en la liberación de los iones férricos asociados a proteínas mediante la acción del ácido clorhídrico; a su vez, los iones férricos liberados reaccionan con el ferrocianuro potásico formando un precipitado azul verdoso de ferrocianuro férrico o azul de Prusia. Tras la reacción, los núcleos se contrastan con rojo neutro, así se permite reconocer la posible existencia de depósitos de hierro, como un signo de diagnóstico característico de la anemia hemolítica.

Las secciones de tubo digestivo (proventrículo, molleja e intestino) y pulmón se tiñeron con la técnica de PAS-Azul Alcían, para resaltar la posible presencia de parásitos u hongos en los tejidos.

1.4. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Para su estudio e identificación mediante SEM, los parásitos aislados del tubo digestivo de las aves se fijaron con glutaraldehído al 2.5%.

Con el fin de llevar a cabo una primera identificación mediante estereomicroscopía y microscopía óptica, los parásitos fueron aclarados con lactofenol siguiendo los protocolos estándar (**Berland, 1982**).

Para su observación con el microscopio electrónico de barrido, los parásitos fueron lavados en etanol 70° mediante sonicación⁹ para eliminar restos de suciedad; posteriormente, se sometieron a una deshidratación gradual en concentraciones crecientes de etanol y, tras alcanzar el punto crítico (*Balzers CPD 020*), se metalizaron con oro-paladio en un sombreador *Jeol JFC-11000*, y se

⁸Max Perls (1843-1881), patólogo alemán.

⁹La sonicación es el acto de aplicación de la energía del sonido (generalmente ultrasonidos) para agitar las partículas de una muestra, con diversos fines científicos o industriales.

examinaron y fotografiaron en el microscopio electrónico de barrido *JSM-T220A* del Servicio de Investigación Agrobiológica del Campus de Lugo-USC.

2. DETERMINACIONES TOXICOLÓGICAS

2.1. Material y reactivos

2.1.1. Reactivos

- Agua ultrapura milli-Q, proporcionada por el sistema de purificación por ósmosis inversa-Millipore
- Ácido nítrico Suprapur[®] 65 %. Merck
- Peróxido de hidrógeno Suprapur[®] 30 %. Merck.
- Materiales de referencia:
 - Músculo bovino: *Reference material 8414 Bovine Muscle Powder*
 - Hígado bovino: *Certified reference material BCR – 185 – R*

2.1.2. Equipos instrumentales

- Equipo de purificación de agua milli-Q. Millipore.
- Balanza analítica. Modelo: Basic series B 220S. Precisión 0.0001 g. Sartorius.
- Estufa para desecación. Modelo: *Conterum*. Serie 2000. Selecta.
- Estación microondas. Modelo: ETHOS Plus 20. Milestone.
- ICP – MS (Espectrometría de Masas con fuente de Plasma de Acoplamiento Inductivo) Varian 820-MS de interfaz de reacción de colisión (CRI).

Se empleó también, diverso material de uso habitual en el laboratorio, como son matraces aforados, micropipetas, vasos de precipitados, crisoles de porcelana, embudos, etc.

2.1.3. Muestras

Se trabajó con muestras de 6 especies (Tabla 3). La población total de aves fue de 429 animales y debido al estado de autólisis de los cadáveres, se seleccionó una muestra significativa de 148 individuos.

Durante la realización de la necropsia de las aves marinas, se tomaron muestras en fresco de hígado y riñón, debido a que son tejidos blandos que disponen de mecanismos específicos para acumular elementos inorgánicos como los metales pesados. Estas muestras se congelaron a -20 °C en tubos de microcentrifuga (Eppendorf[®]), hasta su procesado.

Tabla 3. Muestras de especies y órganos para el análisis toxicológico.

Especie	Muestras	Órgano
Alca común (<i>Alca torda</i>)	64	Hígado
		Riñón
Arao común (<i>Uria aalge</i>)	56	Hígado
		Riñón
Frailecillo atlántico (<i>Fratercula ártica</i>)	8	Hígado
		Riñón
Gaviota patiamarilla (<i>Larus michahellis</i>)	14	Hígado
		Riñón
Alcatraz atlántico (<i>Morus bassanus</i>)	2	Hígado
		Riñón
Cormorán moñudo (<i>Phalacrocorax aristotelis</i>)	4	Hígado
		Riñón
Total de muestras	148 de Hígado y Riñón	

2.2. Métodos analíticos

2.2.1. Preparación de las muestras

En el Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Veterinaria (USC-Campus de Lugo), las muestras de órganos se descongelaron en el frigorífico (4 °C) durante un período de 12 horas para evitar la pérdida de humedad. A continuación, se procedió a un troceado de las mismas lo más fino posible mediante un bisturí, y posteriormente al homogeneizado, con un homogeneizador de vidrio borosilicatado con émbolo-pistón en teflón (PTFE) estriado.

Seguidamente, en una balanza de precisión, se procedió al pesado exacto de una porción de homogeneizado (duplicado), en un rango de peso entre 0.4 y 0.5 g, en los vasos de teflón, previamente tarados, que se habrían de emplear para la mineralización-digestión en una estación microondas. De forma paralela se preparó, también, una tercera muestra de cada porción de homogeneizado, que se pesó en un crisol de porcelana y posteriormente se desecó en estufa de aire (70 °C) hasta peso constante, para así determinar el peso seco de las muestras.

2.2.2. Digestión de las muestras por microondas

La digestión de las muestras se llevó a cabo en una estación microondas de laboratorio, modelo ETHOS Plus 20 Milestone®, equipada con vasos cerrados de teflón TFM (Figura 16) capaces de resistir presiones de hasta 100 bar y temperaturas de hasta 280 °C.

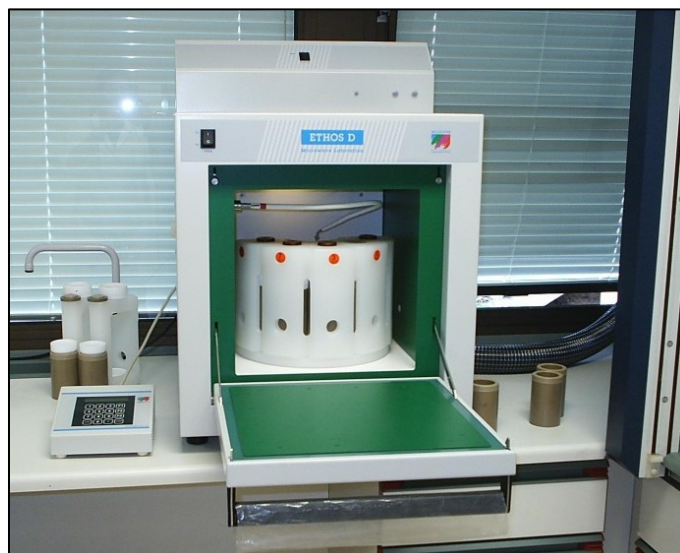


Figura 16. Equipo de Microondas del Laboratorio de Toxicología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela – Campus Lugo.

Para la mineralización de las muestras, se procedió a la digestión por vía húmeda con mezcla de ácidos suprapuros utilizando una variante del método EPA 3052 (EPA, 1996). En cada vaso de teflón se introdujo una cantidad de aproximadamente 0.5 g de submuestra (para cada muestra el proceso se realizó por duplicado), pesada exactamente mediante balanza analítica de precisión. Posteriormente se añadió una mezcla de 7 mL de ácido nítrico suprapur al 65% y 1 mL de peróxido de hidrógeno suprapur al 30%, alcanzando de este modo el volumen mínimo necesario de 8 mL. Después los vasos se cerraron con una llave dinamométrica ajustada a una fuerza de 25 newtons y se introdujeron en el microondas.

Tal como se muestra en la Tabla 4, el proceso de digestión de las muestras tuvo una duración total de 18 minutos y medio, divididos en 3 etapas, de distinta duración e intensidad.

Tabla 4. Protocolo de proceso de digestión por microondas.

Duración (min)	Potencia (W)	Temperatura (°C)
2'30"	250	150
4'30"	450	170
11'30"	650	185

Una vez completadas las etapas correspondientes a la digestión, tuvo lugar un proceso de ventilación, dentro del propio microondas, de 25 minutos de duración, tras el cual pudieron ser extraídos los vasos y abiertos con precaución, siempre y cuando la temperatura del sensor no superara los 30 °C, a fin de no perder volátiles y por seguridad, empleando una llave dinamométrica.

Las disoluciones obtenidas se enrasaron a 50 mL con agua milli-Q en matraces aforado y finalmente se transfirieron a frascos de polietileno, guardándose en refrigeración hasta su análisis por ICP-MS. Paralelamente se procesaron blancos y muestras de material de referencia para comprobación de la precisión y exactitud del método.

2.2.3. Determinación de los metales por ICP-MS

Todas las muestras preparadas se remitieron al Servicio de la Red de Infraestructuras de Apoyo a la Investigación y al Desarrollo Tecnológico (RIADT) - Edificio CACTUS (Campus de Lugo - USC), para ser analizadas mediante la técnica de ICP-MS (Figura 17).

El equipo empleado fue el espectrómetro ICP-Masas Varian 820. La gestión del instrumental se realizó bajo el programa ICP-MS Expert siguiendo el protocolo establecido por el servicio universitario, comprendiendo la determinación de los 12 elementos correspondientes al estudio específico solicitado. Todos los datos obtenidos están expresados en ppm p.s. de muestra.



Figura 17. Espectrómetro ICP-MS-Edificio CACTUS-Lugo.

2.2.4. Control de calidad del método

Sensibilidad y límites de detección

La sensibilidad del método se determina en función de los límites de detección establecidos para el espectrómetro ICP-MS Varian 820 del servicio del RIADT-CACTUS-Lugo (USC, 2012). El límite de detección se define como el mínimo resultado a partir del cual resulta posible determinar la presencia del analito con una seguridad estadística razonable (Tabla 5).

Tabla 5. Límites de detección de los elementos químicos estudiados. Los datos están expresados en ng/L o ppt (Se muestran los isótopos para cada elemento).

⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	⁵⁹ Co	⁶³ Cu	⁵² Cr	⁵⁷ Fe	⁵⁵ Mn	²⁰² Hg	²⁰⁶ Pb	⁷⁸ Se	⁵¹ V	⁶⁸ Zn
0.6	0.2	0.2	1	0.6	44	0.44	S.D.	0.1	2	0.2	1

Los niveles mínimos hallados en el presente estudio se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Nivel mínimo detectado de los elementos químicos evaluados en las muestras del presente estudio con la técnica de ICP-MS.

Elementos analizados	Nivel mínimo de detección (Concentración expresada en ppm p.s.)	
	Hígado	Riñón
Arsénico	12.3820	0.5334
Cadmio	0.7312	0.9229
Cobalto	0.0897	0.1451
Cobre	0.1155	0.0838
Cromo	0.0503	0.0542
Hierro	7526.1000	2401.0430
Manganeso	106.0890	79.0680
Mercurio	0.8691	16.4730
Plomo	N.D.	N.D.
Selenio	33.6720	68.6810
Vanadio	0.2216	0.1866
Zinc	1059.8900	992.0140

*N.D.: No detectado

Precisión del método

La precisión se define como la diferencia entre los resultados obtenidos aplicando quince veces el procedimiento experimental en las mismas condiciones establecidas (DOUE, 2002). Para poder valorar la precisión se calculó el coeficiente de variación (CV) de la media de varias réplicas de una misma disolución de una muestra, teniendo en cuenta la ecuación:

$$CV = \frac{\sigma_{N-0}}{\bar{X}} \times 100$$

σ_{N-0} = Desviación estándar de N muestras

\bar{X} = Media de las muestras

Los coeficientes de variación obtenidos en el presente estudio se muestran en la Tabla 7, estos coeficientes bajos permiten considerar que el método analítico es reproducible y preciso, además para el presente estudio se realizaron dos repeticiones para cada muestra estudiada.

Tabla 7. Coeficiente de variación (%) de la media de 15 réplicas de una misma muestra

⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	⁵⁹ Co	⁶³ Cu	⁵² Cr	⁵⁷ Fe	⁵⁵ Mn	²⁰² Hg	²⁰⁶ Pb	⁷⁸ Se	⁵¹ V	⁶⁸ Zn
4.72	4.55	6.80	2.59	3.93	5.94	4.26	3.46	1.44	4.36	1.36	3.41

Exactitud del método

La exactitud se define como la diferencia entre el valor certificado y el resultado medio que se obtendría aplicando el procedimiento experimental sucesivamente (DOUE, 2002). La forma más adecuada de investigar la exactitud del método es utilizar un material de referencia con un contenido certificado de los elementos a estudiar. Como materiales de referencia se utilizaron: músculo bovino (*Reference Material 8414 Bovine Muscle Powder Agriculture Canada from National Institute of Standards and Technology*) e hígado bovino (*Certified Reference Material BCR - 185R*).

En el caso de análisis repetidos de un material de referencia certificado, la diferencia entre la media y el valor certificado, expresada como porcentaje del valor certificado, no deberá superar un límite de $\pm 10\%$.

Los resultados recogidos en la Tabla 8 fueron calculados empleando la ecuación:

$$\text{Recuperación} = \frac{\text{Concentración obtenida}}{\text{Concentración del Material de Referencia Certificado}} \times 100$$

Así en la Tabla 8, para el control de la calidad del método, se muestran los resultados obtenidos en el análisis de las concentraciones de los 2 materiales de referencia utilizados. Las concentraciones están expresadas en ppm p.s.

Tabla 8. Control de calidad del método utilizando como material de referencia músculo bovino e hígado bovino.

Elemento químico	Músculo Bovino	Concentración determinada	Porcentaje de recuperación	Hígado Bovino	Concentración determinada	Porcentaje de recuperación
Arsénico	0.009 \pm 0.003	0.0093 \pm 0.0012	103.88 \pm 13.59	0.0330 \pm 0.002	0.0326 \pm 0.0047	98.84 \pm 14.32
Cadmio	0.013 \pm 0.011	0.0126 \pm 0.0023	97.18 \pm 17.76	0.544 \pm 0.017	0.6049 \pm 0.0433	111.20 \pm 7.97
Cobalto	0.007 \pm 0.003	0.0062 \pm 0.0006	89.79 \pm 9.40			
Cobre	2.84 \pm 0.45	3.1620 \pm 0.3218	111.34 \pm 11.33	277 \pm 5	298.382 \pm 20.09	107.71 \pm 7.25
Cromo	0.007 \pm 0.003	0.0062 \pm 0.0006	89.79 \pm 9.40			
Hierro	71.2 \pm 9.2	78.115 \pm 6.386	109.71 \pm 8.97			
Manganeso	0.37 \pm 0.09	0.327 \pm 0.033	88.58 \pm 9.08	11.07 \pm 0.29	12.147 \pm 0.547	109.73 \pm 4.94
Mercurio	0.005 \pm 0.003	0.0065 \pm 0.0003	130.52 \pm 6.70			
Plomo	0.38 \pm 0.24	0.3408 \pm 0.034	89.70 \pm 9.15	0.172 \pm 0.009	0.1562 \pm 0.011	90.84 \pm 6.50
Selenio	0.076 \pm 0.010	0.0719 \pm 0.0069	94.66 \pm 9.18	1.68 \pm 0.14	1.791 \pm 0.085	106.61 \pm 5.07
Vanadio	0.005	0.0058 \pm 0.0008	116.50 \pm 16.09			
Zinc	142 \pm 14	152.67 \pm 7.85	107.51 \pm 5.53	138.6 \pm 2.1	146.771 \pm 8.16	105.90 \pm 5.88

2.2.5. Evaluación de resultados

Cálculo de las concentraciones de los metales en las muestras

Para el cálculo de las concentraciones de cadmio y mercurio en las muestras y expresarlas en $\mu\text{g/g}$ o ppm peso fresco como se indica en la reglamentación (EPA 3052), es necesario realizar la conversión de los resultados obtenidos de los análisis, en función del peso fresco de la muestra y del volumen utilizado para diluirla según la ecuación:

$$X = \frac{C \times V}{P}$$

Dónde:

X = Concentración de metal en peso fresco de muestra ($\mu\text{g/g}$, mg/kg o ppm)

C = Concentración de metal en la disolución ($\mu\text{g/L}$)

V = Volumen de dilución de la muestra (50 mL)

P = Peso fresco de la muestra (g)

Cálculo de peso seco en las muestras

Se tomó una alícuota de hígado y riñón para someterla a calentamiento a $80\text{ }^\circ\text{C}$ en estufa de aire durante un período de 48 horas para calcular la cantidad de materia seca de cada muestra, obteniéndose porcentajes de 65% de materia seca para el riñón y 75% para el hígado, coincidiendo con los valores obtenidos por otros autores (**Elliott and Scheuhammer, 1992**).

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La obtención de cadáveres de aves marinas debido al accidente del petrolero, nos ha dado la oportunidad de realizar estudios en especies silvestres con un enfoque multidisciplinar utilizando animales que habitualmente son escasos en las costas de Galicia. También la determinación y evaluación de las concentraciones de elementos químicos en algunos de sus órganos, puede ser de utilidad como indicador de la calidad de la alimentación de estas aves, o del estado de contaminación de su entorno.

3.1. Clasificación epidemiológica del presente estudio

Existen diversos criterios para la clasificación de los estudios epidemiológicos (**MacMahon and Trichopoulos, 1996; Rothman, 2002; Webb and Bain, 2011**); en el presente estudio se utilizaron los siguientes criterios:

- **De acuerdo con la finalidad:** Inicialmente este estudio tiene una finalidad **descriptiva** ya que evalúa las aves marinas afectadas por el derrame de petróleo del buque *Prestige*. En una segunda etapa del estudio se aplica una evaluación **analítica**, cuya finalidad es interpretar una relación causal entre un factor de riesgo (petróleo) y un efecto (muerte de las aves).
- **Unidad de análisis:** Se ha realizado una evaluación **poblacional** o **ecológica** tomando como referencia las 6 especies de aves que aparecieron muertas en las Costas de Galicia que fueron afectadas por el *Prestige*.
- **Selección de la muestra:** Se tomaron muestras **representativas** de las aves muertas.
- **Secuencia temporal:** Es un estudio transversal debido a que los animales son recolectados durante un período de tiempo, asumiendo la muerte progresiva de animales como consecuencia del derrame de petróleo como elemento causal en el accidente.
- **Control de asignación de los factores de estudio:** En el presente trabajo el factor de estudio no está controlado (vertido de petróleo), por lo que el estudio se limita a observar y medir; siendo un estudio **observacional**.
- **De acuerdo con la cronología de los hechos:** El accidente provoca la muerte de aves marinas, realizándose un estudio **prospectivo** debido a que los datos se recogen a medida que se van sucediendo las observaciones.

3.2. Tratamiento estadístico de los datos anatomopatológicos y toxicológicos

Los datos obtenidos de la patología de las aves, así como del estudio toxicológico, fueron sometidos a distintos análisis estadísticos mediante los programas estadísticos Statistica v.7.0 (StatSoft, 2007) y el paquete estadístico SPSS v.20 para Windows (IBM, 2011). Así, se obtuvieron las distintas significaciones y correlaciones estadísticas del contenido de metales en las muestras de aves y órganos analizados, valorando su relación con las lesiones histopatológicas.

Una primera evaluación externa, permitió identificar la especie de ave y el grado de impregnación de petróleo de estas; la prueba de Chi-cuadrado de Pearson, determinó las diferencias existentes entre las especies y la impregnación observada. Durante la necropsia de las aves, la presencia de fuel en el aparato digestivo mostró la ingestión del fuel por parte de estas. Mediante la prueba de Chi-cuadrado se evaluaron tanto la ingestión de fuel, de acuerdo con la especie, como la relación con el grado de impregnación externa de petróleo. La relación entre la especie de ave y la parasitación hallada, así como entre la especie y sexo de las aves, se determinó aplicando, también, la prueba de Chi-cuadrado.

Después de la obtención de las muestras de hígado y riñón, se procedió al análisis histológico de estas, y se trató de buscar las relaciones existentes entre las lesiones macroscópicas y la necrosis observada en hepatocitos y túbulos renales. También se valoró la relación entre las tinciones de

Perls en cortes histológicos de hígado y riñón y la presencia de fuel en el aparato digestivo de las aves.

3.3. Variables utilizadas en el análisis estadístico de los datos obtenidos

3.3.1. Variables categóricas

Las variables categóricas se corresponden con los datos obtenidos tras el estudio anatomopatológico:

- a) **Examen externo:** Son aquellas variables que se observan antes de la realización de la necropsia; se consideran la especie y el grado de impregnación externa con fuel del plumaje.
- b) **Hallazgos de necropsia:** Para fines estadísticos, éstos hallazgos se han agrupado en 3 categorías:
 - (1) **Parasitosis:** Presencia o ausencia de parásitos internos.
 - (2) **Presencia de fuel** en aparato digestivo.
 - (3) **Sexo del animal**
- c) **Histopatología:**
 - (1) **Hígado:** Se tomaron como variables categóricas:
 - (a) Presencia/ausencia de necrosis hepática.
 - (b) Tinción de Perls (variable ordinal, dividida en 5 categorías, desde ausencia hasta un máximo de 4 cruces).
 - (2) **Riñón:** Se tomaron como variables categóricas:
 - (a) Presencia/ausencia de necrosis tubular.
 - (b) Tinción de Perls (variable ordinal, dividida en 5 categorías, desde ausencia hasta un máximo de 4 cruces).

3.3.2. Variables numéricas

Las variables numéricas son las obtenidas tras el estudio toxicológico, que se corresponden con las concentraciones de los 12 elementos químicos analizados (As, Cd, Cr, Co, Cu, Hg, Pb, Mn, Se, Zn) en hígado y riñón, expresadas en mg/kg (ppm p.s.).

En la Tabla 9, se muestra un cuadro resumen de las variables utilizadas para el análisis estadístico de los datos obtenidos.

Tabla 9. Variables utilizadas para el análisis estadístico de los hallazgos realizados en anatomía patológica y toxicología.

Variable	Parámetros		Tipo de variable	Valores	
Categorías	Examen externo	Especie	Nominal	Especies de aves marinas	
		Impregnación external fuel	Ordinal	Limpia/Manchada/Muy Manchada	
	Hallazgos de necropsia	Fuel en Aparato Digestivo	Nominal (Dicotómica)	Presencia/ausencia	
		Parasitosis	Nominal (Dicotómica)	Presencia/ausencia	
		Sexo del animal	Nominal (Dicotómica)	Macho/Hembra	
	Histopatología	Hepática	Necrosis hepática	Nominal (Dicotómica)	Presencia/ausencia
			Perls Hígado	Ordinal	Negativo, +, ++, +++, +++++
		Renal	Necrosis tubular	Nominal (Dicotómica)	Presencia/ausencia
Perls Riñón			Ordinal	Negativo, +, ++, +++, +++++	
Numéricas	Toxicología	Niveles de elementos en Hígado	Continua	Valores en mg/kg (ppm)	
		Niveles de elementos en Riñón	Continua	Valores en mg/kg (ppm)	

Alícuotas de hígado y riñón fueron procesadas para el estudio toxicológico determinándose la concentración de elementos químicos mediante la técnica de ICP-MS. Algunos de estos datos, por ejemplo para el plomo, presentaron concentraciones por debajo del límite de detección, y habría que considerarlos como valor “0”. Para evitar el error estadístico tipo I (falso positivo), que consiste en darle un valor diferente a “0”, se procedió a usar el valor dado por la mitad del mínimo valor de los resultados obtenidos para el plomo, siendo esta cifra arbitraria la que se utilizó para dicho metal pesado (**Clarke, 1998**). Para el resto de metales pesados, no se precisó utilizar esta técnica, ya que siempre se obtuvieron valores por encima del límite de detección.

Las diferentes técnicas estadísticas robustas requieren que los datos se encuentren distribuidos de forma normal, es decir, que la curtosis y apuntamiento de los datos sean los más parecidos a una campana de Gauss; este requisito en el estudio de metales pesados y metaloides en la práctica es muy difícil de encontrar, ya que la distribución de los datos varía mucho y es necesario recurrir a ciertas herramientas para lograr una distribución normal, como la transformación logarítmica, distribución de Poisson, etc. (**Edwards and Hamilton, 1995**). Sin embargo, la mejor técnica para lograr esta normalización de los datos la obtenemos con la técnica robusta de Box-Cox, como indican numerosos estudios (**Bagur et al., 2009; McGrath et al., 2004; Osborne, 2010; Peltier et al., 1998; Zhang and Zhang, 1996; Zhang Chaosheng et al., 1995**).

Se realizó una evaluación de los niveles de los elementos químicos estudiados con respecto al órgano, sin tener en cuenta la variable especie, aplicando una prueba paramétrica *t de student* para muestras pareadas, debido a que se trata del hígado y riñón de un mismo individuo. También se

determinaron las diferencias existentes entre los niveles obtenidos en el fuel y los encontrados en el hígado y riñón de las aves con la prueba de *t-student* para una sola muestra (fuel).

En el análisis comparativo entre las dos especies más numerosas -alca (*Alca torda*) y arao (*Uria aalge*)- y con mayor número de muestras, para los doce elementos químicos estudiados, se aplicó la técnica paramétrica *t de student* en muestras independientes con los datos normalizados.

Se realizaron pruebas de correlaciones bivariadas que permitieron encontrar el nivel de correlación (entre -1 y 1) significativo ($p < 0.05$) entre los diferentes elementos químicos estudiados. En primer lugar, se analizaron para cada órgano (hígado y riñón) y después se hicieron correlaciones cruzadas entre los dos órganos. De esta forma, se determinó simultáneamente si las concentraciones de cada elemento químico en el hígado estaban correlacionadas con las concentraciones en el riñón y también dentro de cada órgano.

Para el análisis por especies, se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) utilizando el estadístico de Welch por ser los grupos no homogéneos. Así, se comprueba la diferencia que existe entre todos los grupos estudiados. Una vez observadas las diferencias significativas, se exponen los niveles de cada elemento estudiado agrupados en la variable especie en gráficos de caja y bigotes.

La comparación entre los grupos de aves control (aquellas sin petróleo externo ni en el tubo digestivo) y las aves petroleadas (presentan petróleo en el aparato digestivo) se realizó mediante la prueba estadística no paramétrica para muestras independientes de U-Mann Whitney, para cada especie por separado, por ser la variable especie la de mayor importancia. En este estudio se excluyeron las especies de alcatraz y cormorán por no disponer de la cantidad de animales suficientes para el análisis estadístico fiable.

También se procedió a la evaluación de los resultados obtenidos de acuerdo con la fecha de recogida de las aves, en períodos quincenales, para lo cual se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskall-Wallis evaluando los hallazgos dentro de cada especie por separado y exponiendo los resultados con un diagrama de las medias obtenidas.

Se evaluaron el sexo y la presencia de parásitos mediante la prueba de U-Mann Whitney. La evaluación parasitaria de niveles de metales y su relación con la parasitación digestiva sólo se llevó a cabo para la especie alca, por tener un número elevado de animales con y sin parásitos y ser la especie en la cual se llevó a cabo el estudio histopatológico exhaustivo de los órganos parasitados. Se exponen los gráficos de medias para el sexo y los gráficos de caja y bigotes para el estudio de la parasitación.

Las relaciones entre la necrosis hepática y la necrosis tubular en riñón y la evaluación analítica toxicológica se realizaron mediante la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney. Además, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para evaluar las relaciones entre las concentraciones de los elementos químicos y el grado de tinción de Perls. Los resultados obtenidos se exponen mediante gráficos de medias.





IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Anatomía patológica



1. INSPECCIÓN EXTERNA

1.1. Determinación de la especie y el sexo de las aves

En la inspección externa determinamos la especie de las aves recibidas (Tabla 10), siendo identificados 220 ejemplares de alca común, 103 de arao común, 51 de frailecillo atlántico, 43 de gaviota patiamarilla, 6 de alcatraz atlántico y 4 ejemplares de cormorán moñudo, además de dos aves de especie no reconocida.

Tabla 10. Especies y sexo de las aves marinas analizadas en el presente estudio.

Familia	Especie	Sexo			Total
		Macho	Hembra	Sin determinar	
ALCIDAE	Alca común <i>Alca torda</i>	58	129	33	220
	Arao común <i>Uria aalge</i>	28	74	1	103
	Frailecillo atlántico <i>Fratercula arctica</i>	11	34	6	51
LARIDAE	Gaviota patiamarilla <i>Larus michahellis</i>	4	20	19	43
SULIDAE	Alcatraz atlántico <i>Morus bassanus</i>	3	2	1	6
PHALACROCORACIDAE	Cormorán moñudo <i>Phalacrocorax aristotelis</i>	3	1		4
Total		107	260	60	427 (2 aves no reconocidas)

La Dirección Xeral de Conservación da Natureza de la Xunta de Galicia realizó un seguimiento del número de aves recogidas vivas y muertas en las costas de Galicia, desde el 15 de noviembre de 2002 hasta el 31 de agosto de 2003, obteniéndose un total de 12 211 aves, de las cuales 2 469 (20.2%) se recogieron vivas y 9 472 (77.6%) se recogieron muertas (**Xunta de Galicia, 2003**).

Entre las especies de aves marinas más afectadas se encontraron tres especies de álcidos: alca común (*Alca torda*), arao común (*Uria aalge*) y frailecillo atlántico (*Fratercula arctica*) que constituyeron el 80.5% del total de aves recogidas. El arao común, con 4 492 (36.8%) individuos recogidos (1 140 vivos y 3 352 muertos), fue la especie más afectada, seguida del alca común con un total de 2 861 individuos (589 vivos y 2 272 aves muertas), el frailecillo con 2 473 (168 vivas y 2 305 muertos), el cormorán con 380 individuos (146 vivos y 234 muertos) y el alcatraz atlántico con 432 animales (187 vivos y 245 muertos). La especie de gaviota más afectada fue la patiamarilla con 634 animales (103 vivos y 531 muertos). Teniendo en cuenta estos datos consideramos que el presente estudio es una muestra muy representativa de las aves marinas muertas durante la tragedia del *Prestige*.

1.2. Impregnación de las aves por petróleo

Teniendo en cuenta el grado de impregnación externa con fuel, se observó que 228 aves (53.38%) de las aves pertenecían a la categoría de aves limpias o poco manchadas, 151 aves (37.43%) a la categoría de aves manchadas y 38 aves (9.17%) a la categoría de aves muy manchadas o cubiertas de fuel (Figura 18).

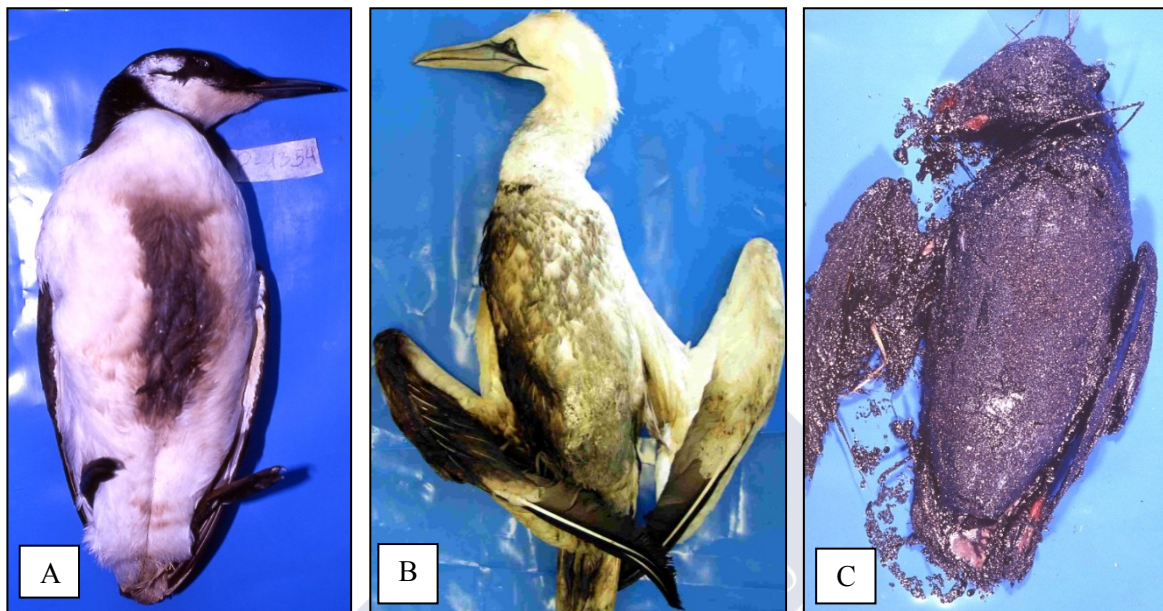


Figura 18. Impregnación de fuel en aves. (A) Limpia/poco manchada. (B) Ave manchada. (C) Ave muy manchada/cubierta de fuel.

Con los datos de la impregnación externa se realizó una tabla de contingencia para poner de manifiesto el tipo de impregnación en relación a la especie. En el grupo de las alcas, 97 aves (46%) se consideraron limpias, mientras que en 93 aves (44%) se observaron manchas dispersas, y 22 aves (10%) estaban completamente cubiertas de fuel. Los araos, en su mayoría (72 aves, 70%) no presentaban impregnación de fuel; en 24 de ellos (23%) se apreciaron restos de fuel externo y 7 aves (7%) estaban cubiertas de fuel. En el grupo de frailecillos 20 aves (40%) se encontraron limpias, mientras que en 22 aves (44%) se observaron manchas externas y ocho aves (16%) estuvieron completamente impregnadas por fuel. En las gaviotas evaluadas, 27 (68%) no presentaban restos de fuel, 12 aves (30%) mostraban manchas dispersas y tan sólo 1 ave (3%) estaba cubierta de fuel.

La gráfica de las relaciones entre la impregnación externa y las especies se muestra en la Figura 19.

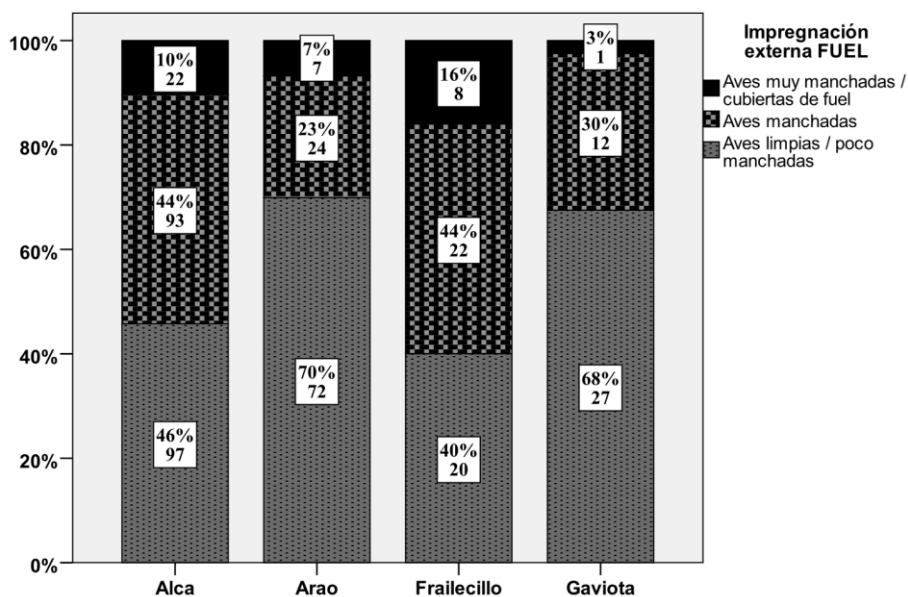


Figura 19. Relación entre especies estudiadas y el tipo de impregnación externa de fuel. En las casillas se muestra el porcentaje y el número de aves afectadas (parte inferior).

En la relación entre la impregnación externa por fuel y la especie de ave marina se obtiene un Chi-cuadrado de Pearson de 23.65, siendo el valor de $p < 0.001$. El grupo de los araos y gaviotas presentaban casi un 70% de ejemplares limpios o poco manchados, mientras que en el grupo de las alcas y frailecillos la mayoría de los ejemplares aparecían manchados o muy manchados.

El hecho de que los araos aparecieran más limpios, lo atribuimos a que la migración de esta especie llegó a las costas de Galicia unos días más tarde que la de alcas y frailecillos, cuando el mar ya no estaba tan contaminado y el fuel estaba más deshidratado y espeso, haciendo más difícil la impregnación. En el caso de la gaviota, la menor impregnación externa puede atribuirse al comportamiento etológico de esta especie, que se alimenta de restos de pescado en los puertos y que cuando pesca, lo hace muy superficialmente, al contrario que la familia buceadora de los álcidos. Asimismo, no hay que descartar que la impregnación externa por petróleo podría ser un evento posterior a la muerte del ave marina y no necesariamente la causa de esta (**Bouquegneau et al., 2001**).

Además de la impregnación externa por petróleo, durante la inspección externa de las aves observamos algunos ejemplares con fracturas de las alas, de la columna, de la cola, sin patas y con hemorragias (Figura 20) y/o traumatismos en la región del cuello y la cabeza.

En los últimos años, las poblaciones de aves marinas se han visto afectadas negativamente. Entre los principales motivos se encuentra el cambio climático del último siglo (**Noyes et al., 2009**), la

sobrepesca (ICES, 2009) y la contaminación de las aguas por el petróleo o sus derivados (White and Wolfe, 1997).

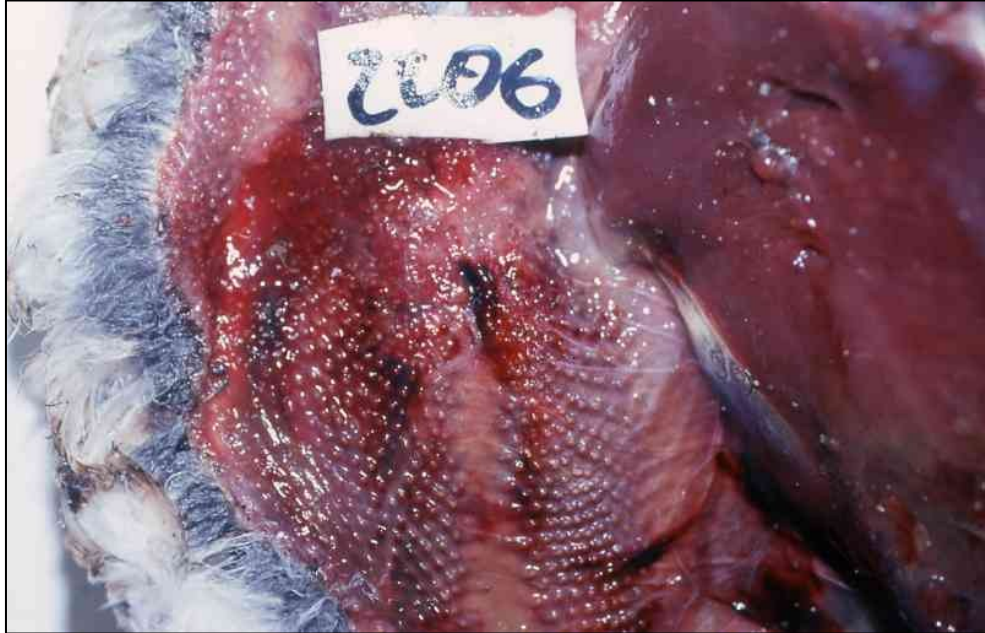


Figura 20. Hemorragia subcutánea en alca común.

Desde los años 60, el museo de Estocolmo está evaluando el impacto medioambiental producido por el hombre o la naturaleza. En este museo se constituyó un banco de especies cuyo propósito es evaluar los niveles de contaminación medioambiental en el tiempo; en este tipo de estudios retrospectivos, los huevos de los araos (*Uria aalge*) han resultado ser buenos indicadores de la contaminación en el mar báltico (Odsjo *et al.*, 1997). También en Galicia se ha planteado un proyecto para la elaboración de un banco de especies (Carballeira Ocaña and Aboal Viñas, 2000).

Existen diversos organismos, desde insectos a roedores, que se consideran buenos bioindicadores del estado del medio ambiente (Kolf-Claw *et al.*, 2007). Las aves marinas también se utilizan como bioindicadores del estado de las aguas, ya que por el nivel que ocupan en la cadena trófica, pueden acumular y ser biovectores de diferentes elementos químicos, tales como metales (Michelutti *et al.*, 2010), algunos de ellos muy tóxicos (S&E, 2002). Durante muchos años, las aves también se han utilizado como indicadores de contaminación de las aguas por derivados de petróleo, especialmente en el Mar del Norte, de hecho, el análisis del petróleo de las aves se está utilizando para la trazabilidad del origen de la contaminación con fines legales (Furness and Camphuysen, 1997).

La industria petrolera provoca un impacto negativo directo en las aves marinas, como se ha demostrado en Newfoundland (Canadá), un hábitat donde viven millones de aves (**Wiese and Ryan, 2003**), en el que hasta el 74% de las aves muertas presenta contaminación externa con petróleo. Está considerada una de las zonas del mundo con la mayor contaminación crónica por derivados del petróleo, ya que presenta mucho tráfico de barcos, al igual que Galicia.

La mortalidad de las aves marinas por vertidos de petróleo es difícil de evaluar, aunque es bien conocido que el número de aves que se llegan a recoger, vivas o muertas, es solo un pequeño porcentaje de los ejemplares realmente afectados (**García et al., 2003**). Diversos estudios han demostrado que sólo una cuarta parte o menos de las aves marinas afectadas por vertidos de petróleo aparecen muertas en las costas, ya que el resto desaparece en el mar o se hunden porque no pueden volar (**Michel, 2001**). Entre los factores que determinan la probabilidad de que el ave sea encontrada destacan: la distancia desde el punto de impregnación hasta la costa, el grado de impregnación del plumaje, la composición y toxicidad del fuel, la dirección e intensidad del viento, la velocidad y dirección de las corrientes marinas, el tipo de costa y su accesibilidad, la predación de los cadáveres además de la época del año y la intensidad de la búsqueda de las aves, todos ellos factores que pueden variar con cada vertido.

En experimentos de liberación de bloques de madera de distintos tamaños y pesos simulando diferentes especies de aves, se ha estimado una recuperación de aves de entre un 0.7%, cuando los bloques se liberaron con viento en alta mar, y de un 61% cuando se liberaron con viento en tierra (**Flint and Fowler, 1998**). En otro experimento realizado en las costas de Alaska se encontraron sólo un 16% de los bloques (**Piatt et al., 1990**).

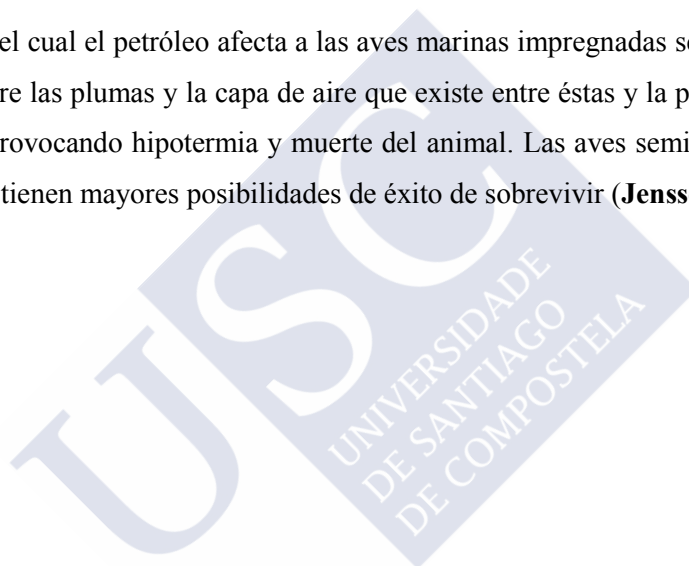
En cuanto a la evaluación en Galicia de la cantidad de aves que pudieron haber muerto después de la tragedia del *Prestige*, el uso de bloques pintados de amarillo dio un 16% de recuperación (**Munilla et al., 2011**), siendo todavía inferior el porcentaje obtenido en Asturias. En el caso del vertido del *Prestige*, los factores que determinan la probabilidad de recuperación de las aves han sido muy negativos, tales como la distancia considerable del punto de hundimiento del petrolero hasta la costa, el flujo continuo de fuel del pecio, los vientos y corrientes marinas en la época del invierno que empujaron a muchas aves mar adentro, la escasa accesibilidad de las costas de Galicia, de morfología muy indentada y rocosa que solamente permitió el trabajo de los voluntarios en las playas y áreas accesibles (aproximadamente 1/3 del total de costa afectada) y el importante flujo migratorio de aves marinas en el momento del vertido, de noviembre a diciembre, entre otros (**García et al., 2003**).

Las aves son muy sensibles a los vertidos de petróleo, porque provocan en estas una pérdida de la impermeabilidad del plumaje y problemas de termorregulación y flotabilidad (**Briggs et al., 1996**). Entre los trastornos más frecuentes observados como consecuencia de los vertidos se encuentran la

hipotermia, deshidratación, pérdida de peso, malnutrición, trastornos intestinales, neumonía, lesiones hepáticas y renales (**Kammerer et al., 2004**), así como inmunodeficiencia por disminución en el recuento de leucocitos (**Briggs et al., 1997**).

En cuanto a las aves que se recogen vivas en las costas después de un vertido, el éxito de supervivencia es muy variable y, en la mayoría de los casos, no muy alentador, ni a corto ni a largo plazo. Su recuperación va a depender de factores como la especie, el grado de impregnación externa con petróleo o la edad. En especies como el arao (*Uria aalge*) el grado de supervivencia es muy bajo, ya que son proclives a la impregnación externa debido a su continuo ejercicio de buceo en superficie, estimándose una supervivencia entre el 1 y 20% de los ejemplares recuperados un año después de su liberación (**Mead, 1997**). En el caso del *Prestige*, el porcentaje de rehabilitación de las aves recogidas fue del 10%, similar a otras catástrofes de este tipo (**García et al., 2003**).

El mecanismo por el cual el petróleo afecta a las aves marinas impregnadas se inicia con la pérdida del aislamiento entre las plumas y la capa de aire que existe entre éstas y la piel, por lo que el agua moja el plumaje, provocando hipotermia y muerte del animal. Las aves semi-acuáticas o terrestres como las gaviotas, tienen mayores posibilidades de éxito de sobrevivir (**Jenssen, 1994**).



2. LESIONES OBSERVADAS EN LA INSPECCIÓN INTERNA

2.1. Lesiones observadas tras el desollado

Tras el desollado, se observaron hemorragias en la musculatura de la región pectoral en 4 aves (1%) y edema subcutáneo en 3 aves (0.8%) (Figura 21).

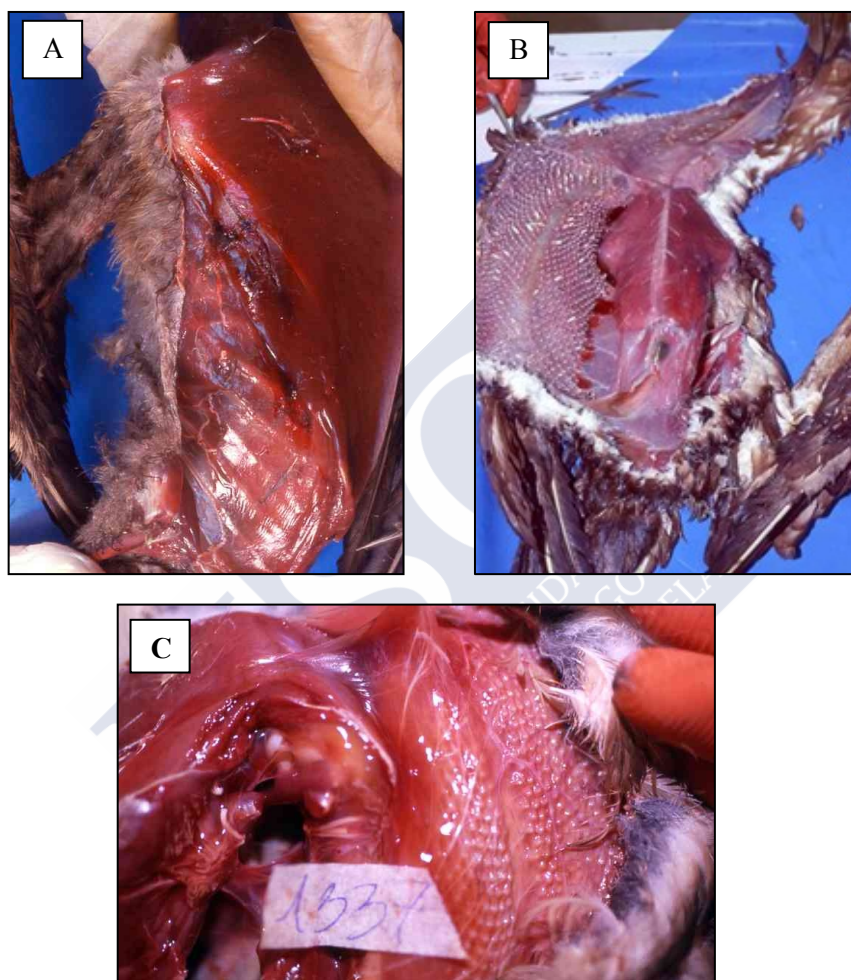


Figura 21. Lesiones observadas tras el desollado. (A) Hemorragia muscular en la región pectoral en un alca común. **(B)** Edema subcutáneo en un cormorán moñudo. **(C)** Edema subcutáneo en la región pectoral en un arao común.

2.2. Lesiones en las cavidades corporales

Tan sólo 7 aves (2%) presentaron abundante grasa en la cavidad abdominal y alrededor del surco coronario; en las otras 420 restantes (98%) se observó una ausencia casi total de grasa corporal (Figura 22). De estas 7 aves, 5 pertenecían al grupo de las gaviotas, una era un frailecillo y otra un alcatraz; ninguna de estas aves presentaba fuel en el tracto digestivo; externamente tenían pocas manchas en su mayoría a excepción del frailecillo que estaba cubierto de fuel. Estas manchas

externas de fuel, pueden ser debidas a un proceso de impregnación posterior a la muerte de estas aves.

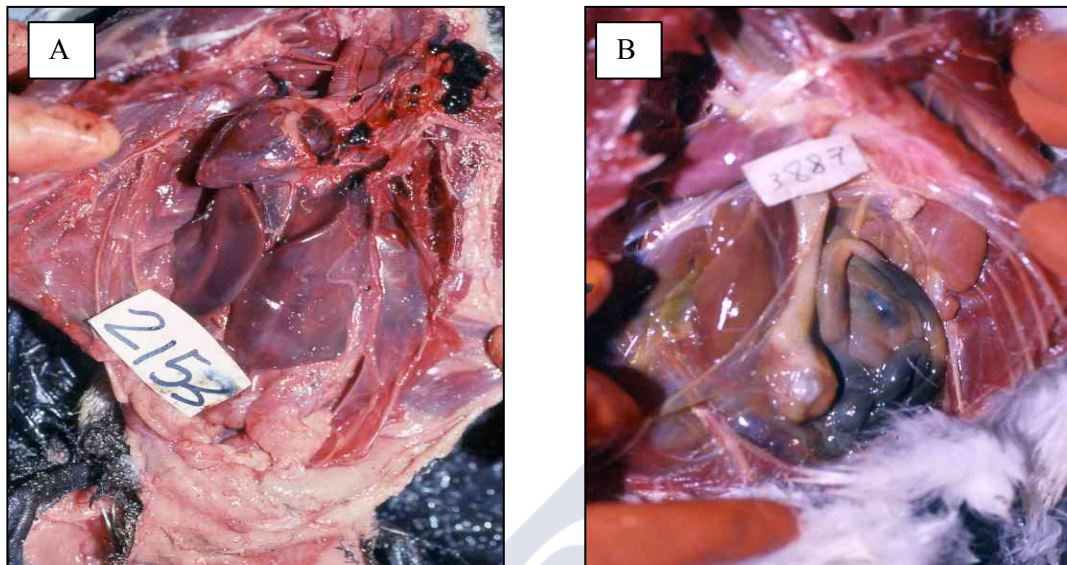


Figura 22. Condición corporal de las aves. (A) Frailecillo bastante impregnado externamente con fuel mostrando abundante grasa en la cavidad abdominal. **(B)** *Alca torda* con ausencia de grasa abdominal, presencia de fuel en intestino y palidez del hígado y los riñones.

Son varios los estudios que señalan una baja condición corporal de las aves, vivas o muertas, encontradas tras un vertido, en coincidencia con nuestros datos. En Japón, en alca rinoceronte (*Cerorhinca monocerata*) se realizó un estudio de comparación entre aves petroleadas y otras muertas de forma accidental, observando que todas las aves petroleadas tenían una condición corporal baja, habiendo perdido el 60% del peso del hígado y un tercio de su peso corporal. Además, habían consumido el 90% de sus reservas de grasa y la médula ósea estaba reemplazada por líquido de edema (atrofia serosa). Estas aves petroleadas no murieron instantáneamente sino después de unos días, debido a las bajas temperaturas del agua y a la hipotermia secundaria, al no poder aislar el cuerpo con las plumas. Se estima que las aves consumieron sus reservas en dos días y luego murieron (Oka and Okuyama, 2000).

En general, se considera que las aves moribundas permanecen en la costa durante un período de 5.3 a 13.3 días antes de morir. En el caso de los araos, la mayoría de los que se recuperan en las costas tienen una condición corporal muy baja y ausencia de grasa subcutánea (caquéticos), lo que indica que utilizan sus reservas de proteínas como último recurso energético junto con las reservas de grasa del hígado; en estas aves tan debilitadas también se observa con frecuencia gastroenteritis hemorrágica aguda (Bouquegneau *et al.*, 2001).

En un estudio realizado sobre un total de 67 araos recogidos entre noviembre de 1993 y marzo de 1994 en las costas de Bélgica, se encontró en el 70% de los individuos emaciación y

gastroenteropatía hemorrágica aguda; la mayoría de las aves también presentaron impregnación de petróleo, quizás como consecuencia de las descargas de los sentinazos de los barcos en las aguas. En este estudio en concreto, no se relacionaron las lesiones con el grado de impregnación de petróleo, presentando además estas aves unos niveles de metales pesados y mercurio inferiores a los considerados como tóxicos (**Jauniaux et al., 1998**).

En otro caso de mortalidad espontánea en el que aparecieron 3500 araos muertos en las costas de Alaska durante los seis primeros meses de 1993 se encontró que hasta un 60% de las aves recogidas presentaban signos de emaciación; en este caso se consideró que la causa de muerte fue principalmente la falta de alimentos derivada de las condiciones climáticas especialmente adversas (**Piatt and Van Pelt, 1997**).

Como consecuencia del accidente del *Prestige* el Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) de Gijón, Asturias, evaluó un total de 2465 aves muertas, describiendo como especies más afectadas el arao, el alca y el frailecillo. Al igual que en nuestro estudio, los hallazgos macroscópicos más frecuentes fueron la caquexia y emaciación en la mayoría de las aves; microscópicamente, la presencia de depósitos de hemosiderina, es compatible con un estado de caquexia asociada a anemia hemolítica. El grupo de animales que no sobrevivió al tratamiento en los centros de recuperación, presentó aspergilosis y ulceraciones que se consideraron provocadas por el estrés del tratamiento, concluyéndose como causa de muerte la deshidratación y el agotamiento de las aves, sobre todo de ejemplares juveniles (**Balseiro et al., 2005**).

En nuestro estudio consideramos que en las aves provenientes de migraciones lejanas, como el frailecillo, sería esperable una baja condición corporal en el momento de la tragedia del *Prestige*, ya que el propio viaje de migración supone un consumo importante de las reservas grasas; aunque, también se observó un cadáver de frailecillo con abundante grasa (Figura 22-A), las otras 6 aves en las que observamos abundante grasa en su mayoría pertenecían al grupo de gaviotas; en ninguna de las 7 aves con buena condición corporal se observó la presencia de fuel en el intestino (Figura 22-B), lo que indica que la ingestión de fuel pudo haber sido una causa importante de la emaciación de las aves en nuestro estudio, y no solamente el consumo de las reservas durante el viaje migratorio.



Figura 23. Aerোসaculitis y perihepatitis en alca común. Observar la presencia de membranas de fibrina blanquecinas sobre el hígado y sacos aéreos abdominales.

En 2 aves (0.5%) observamos otras lesiones en las cavidades corporales, tales como presencia de exudados fibrinosos o fibrinoso-purulentos en los sacos aéreos, asociados a signos de perihepatitis (Figura 23), pericarditis y/o enteritis catarral aguda (Figura 24).

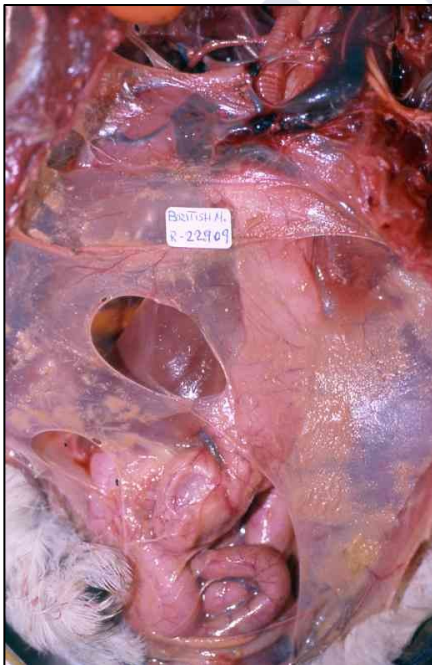


Figura 24. Aerোসaculitis fibrinoso purulenta en un arao asociada a enteritis. Observar los restos de fibrina y pus amarillento en los sacos aéreos torácicos (izquierda) y la dilatación y congestión del intestino delgado (derecha).

2.3. Lesiones en órganos internos

2.3.1. Bazo

Tan sólo 2 de las aves (0.5%) mostraban una considerable esplenomegalia, con consistencia firme del bazo, en el cual se dibujaba claramente la hiperplasia reactiva de la pulpa blanca (Figura 25).

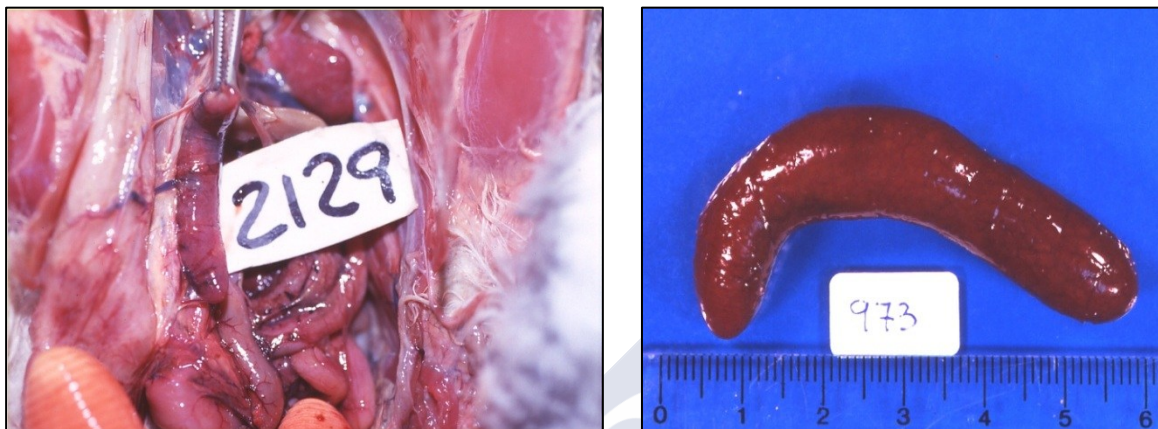


Figura 25. Dos casos de esplenomegalia en gaviotas.

2.3.2. Hígado

Una lesión muy común fue la coloración pálida del hígado, observada en 300 de las aves objeto de estudio (69.6%), asociada a un menor tamaño del órgano (Figura 26), lo que interpretamos como un signo de atrofia consecuencia de la consunción de las aves.

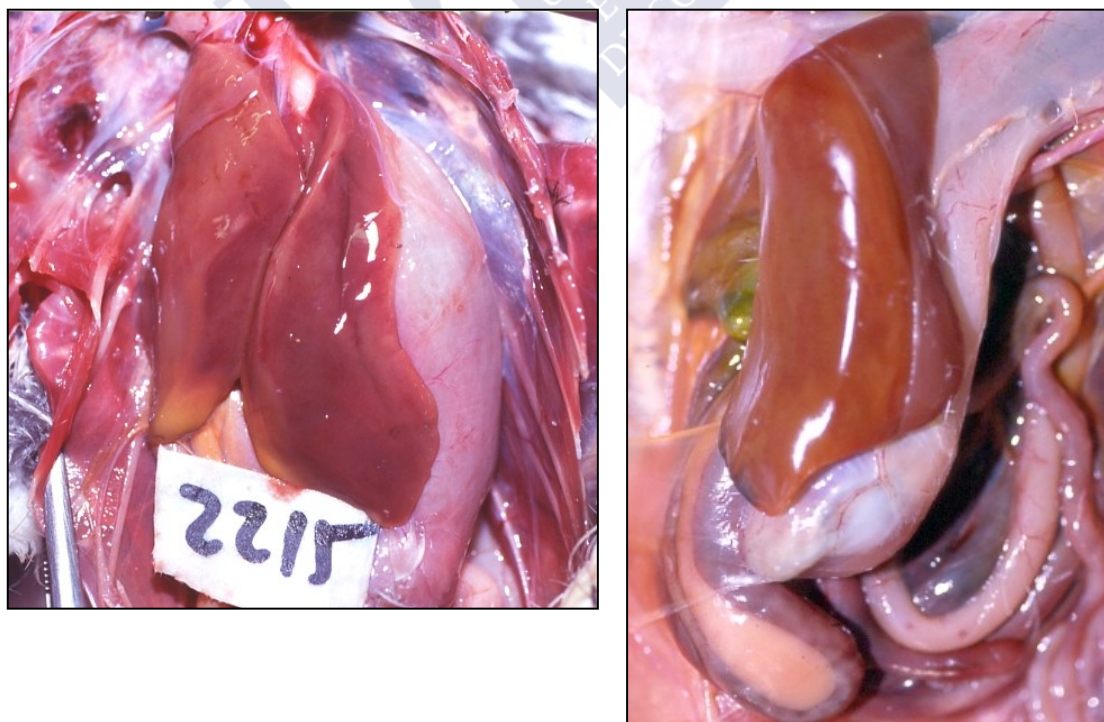


Figura 26. Coloración pálida del hígado. En un alca común (Izquierda) En un arao común (Derecha).

Otras 12 aves (3%) mostraron pseudomelanosis *postmortem* en la cual la sulfametahemoglobina teñía típicamente los bordes del hígado y toda la superficie visceral de este órgano en contacto con el proventrículo (Figura 27).

En 11 de las aves estudiadas (2.7%) se apreciaron áreas de necrosis en el hígado (Figura 28). En experimentos realizados con embriones de pollo común (*Gallus domesticus*) de 9 días, expuestos a entre 10 y 20 μ l de petróleo, se observó el desarrollo de ascitis, edema subcutáneo, necrosis hepática y dilatación del corazón, así como mineralización de los túbulos del riñón (Couillard and Leighton, 1989, 1990a, b; Khan and Ryan, 1991), patologías similares a las encontradas en las aves objeto de nuestro estudio.

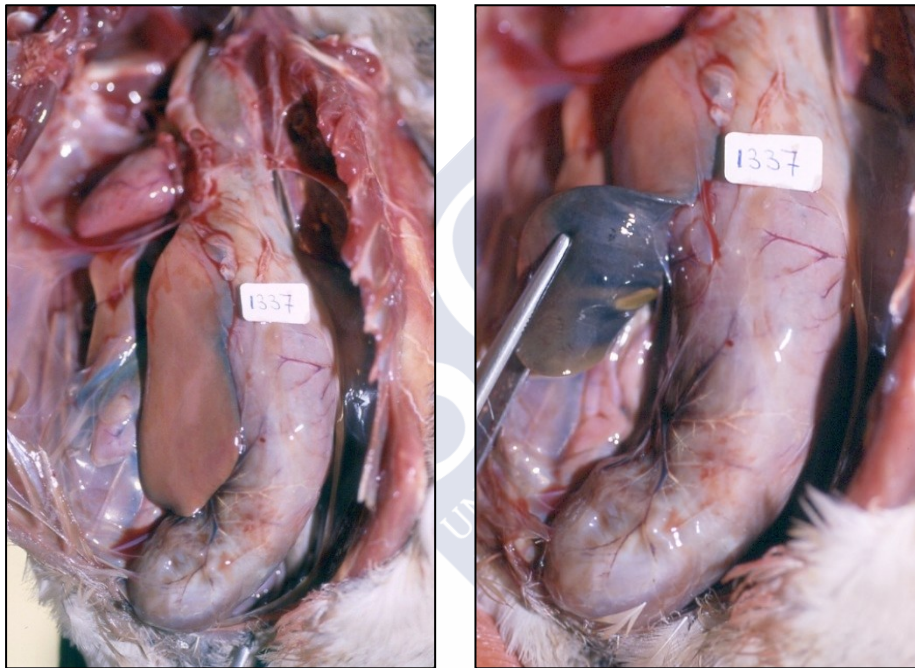


Figura 27. Hígado de arao con pseudomelanosis.



Figura 28. Necrosis hepática en una gaviota.

2.3.3. Aparato respiratorio

Solamente 4 aves (1%) presentaron signos de inhalación de fuel, el cual aparecía distribuido en grumos por los sacos aéreos y el pericardio, o impregnando los pulmones (Figura 29).

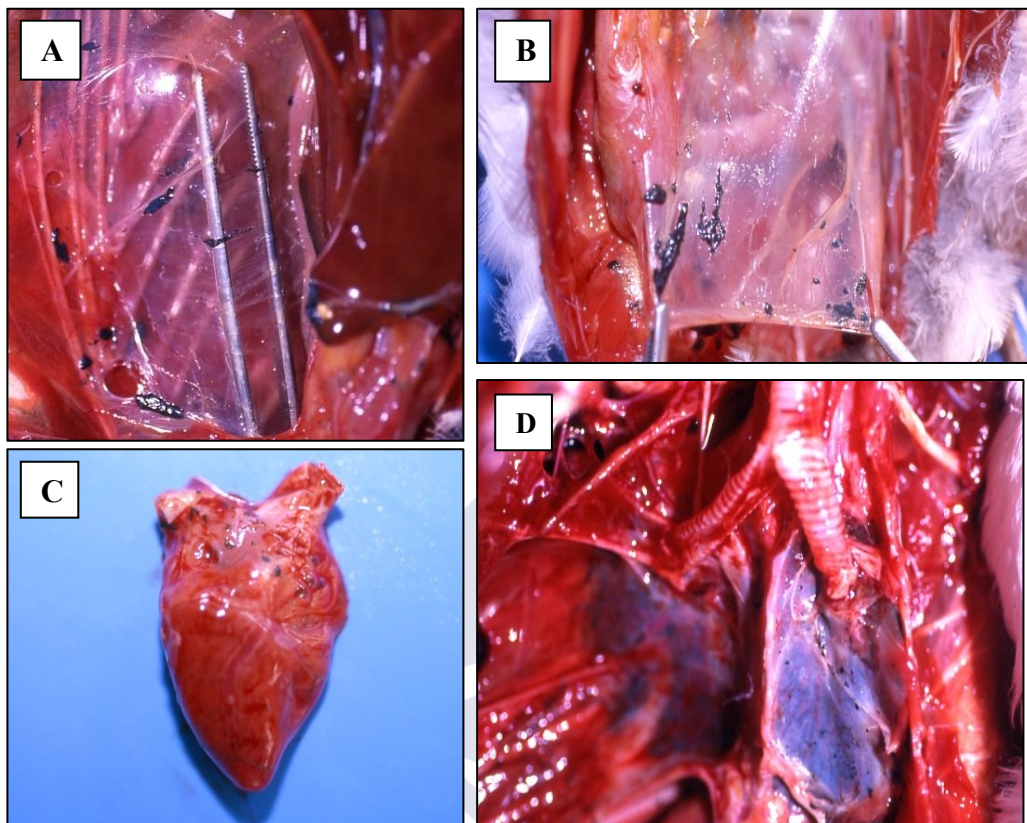


Figura 29. Alca común mostrando impregnación de petróleo. (A) Sacos aéreos torácicos, (B) abdominales, (C) epicardio y (D) pulmones.

También observamos hemorragia pulmonar en 19 aves, un 4.6%, en ocasiones asociada a un cuadro hemorrágico generalizado (Figura 30).

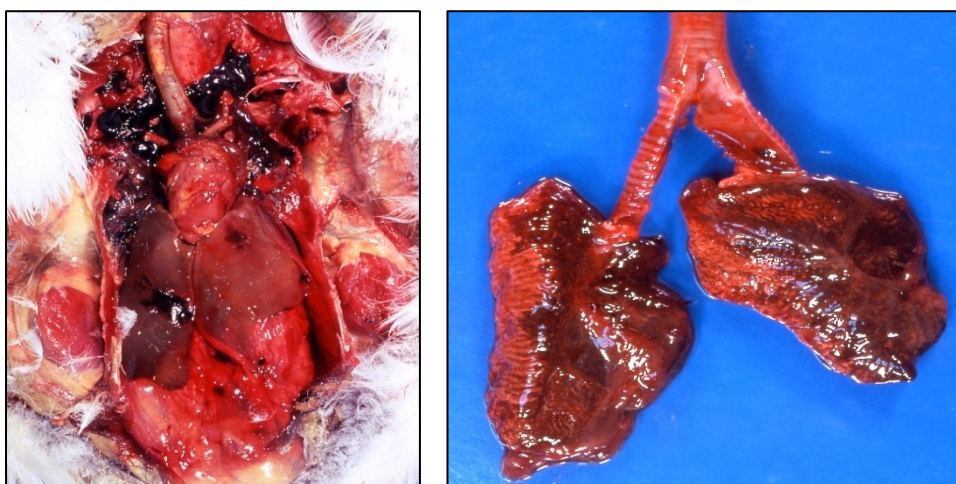


Figura 30. Cuadro hemorrágico generalizado en gaviota con la presencia de grandes coágulos en la cavidad pleural (izquierda) y hemorragia pulmonar en un *Alca torda* (derecha).

2.3.4. Aparato digestivo

En 370 casos (87%) se observó una ausencia de restos de alimento y presencia de fuel en el tubo digestivo. El fuel podía encontrarse tanto en el esófago y proventrículo (Figura 31), como en la molleja (Figura 32 y Figura 33), el intestino (Figura 34), o en todo el tracto digestivo (Figura 35); la gran mayoría de las aves presentaban grandes cantidades de petróleo en intestino (Figura 35).

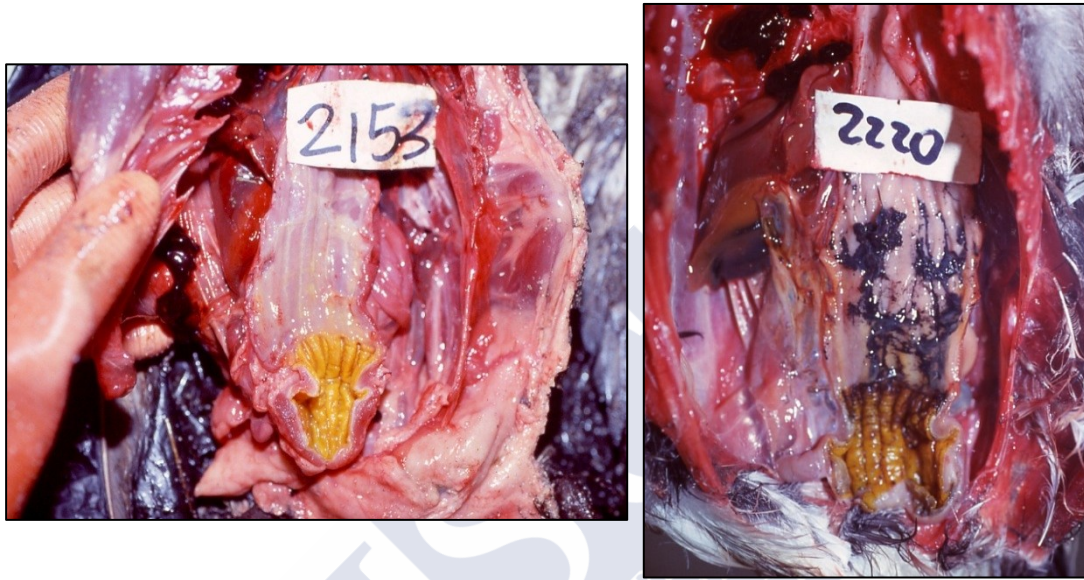


Figura 31. Aparato digestivo de aves marinas abierto longitudinalmente mostrando ausencia de petróleo (izquierda, frailecillo atlántico) o presencia en el esófago y proventrículo (derecha, alca común).



Figura 32. Aparato digestivo de *Alca torda* mostrando la presencia de restos de petróleo en el proventrículo y sobre la capa de queilina de la molleja.

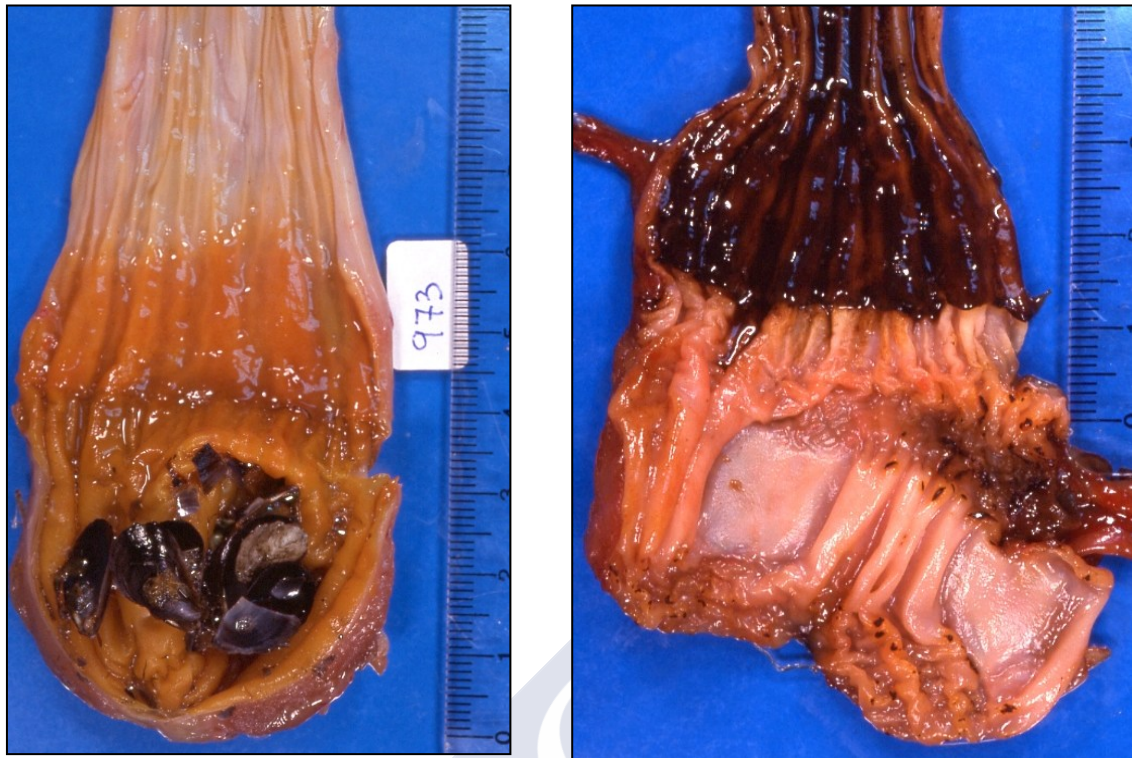


Figura 33. Aparato digestivo de gaviotas abierto longitudinalmente mostrando ausencia de petróleo y presencia de restos de conchas en la molleja (izquierda) y presencia de fuel en proventrículo y molleja, si bien el petróleo de la molleja se eliminó al retirar la capa de quelina (derecha).

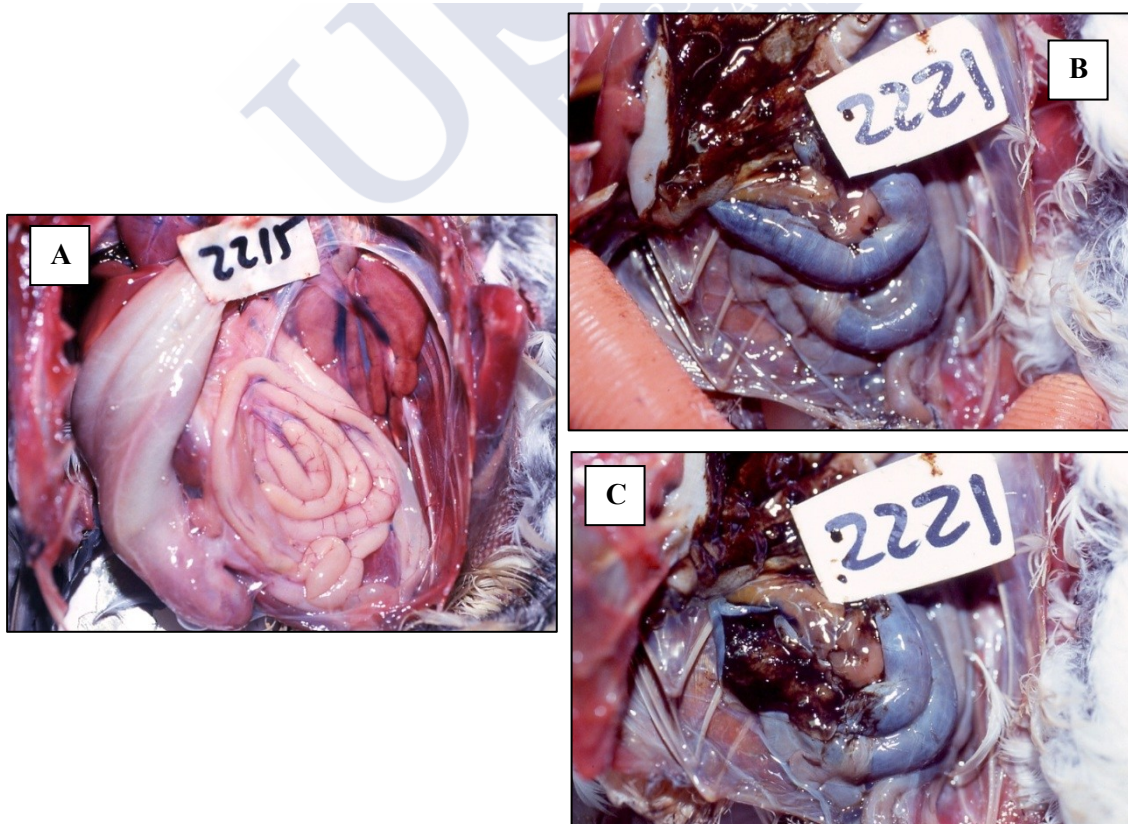


Figura 34. Aparato digestivo de alcas. (A) Ausencia de fuel en el intestino. (B) Presencia de abundantes restos de petróleo en el intestino cerrado y (C) abierto.

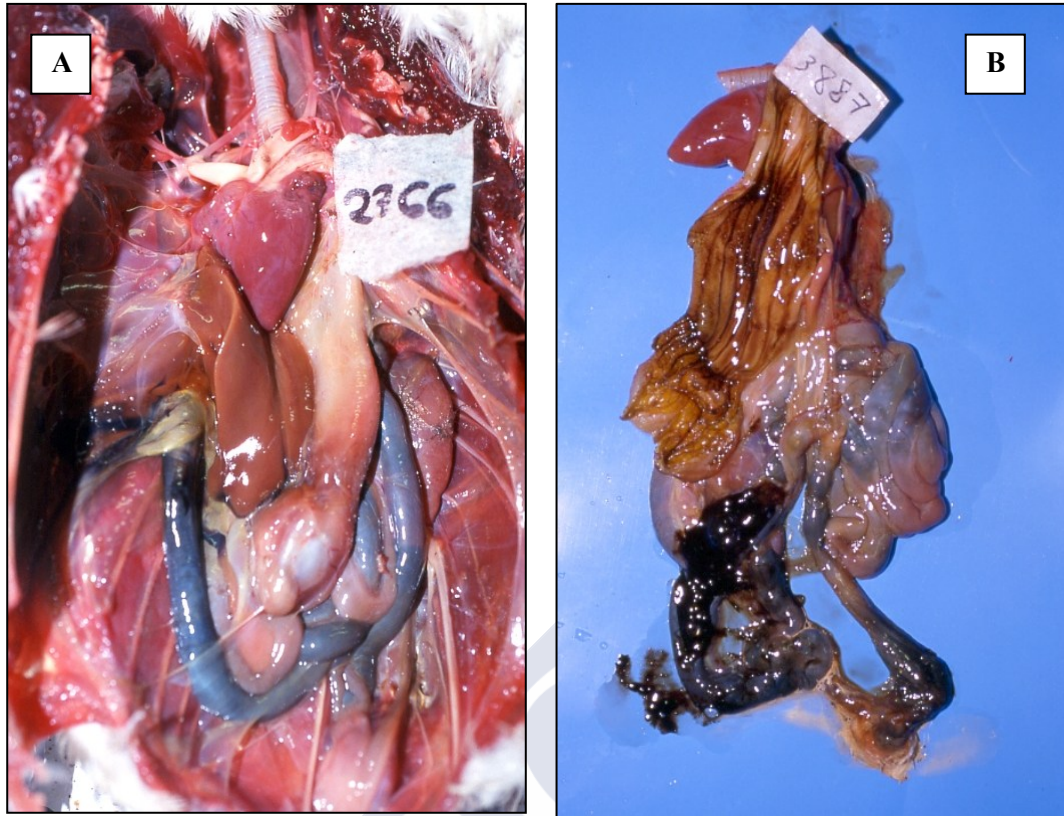


Figura 35. Restos de fuel en todo el aparato digestivo (A) Arao común, o solamente en intestino (B) Alca común.

Con los datos de la presencia o ausencia de fuel en el tubo digestivo realizamos una tabla de contingencia para poner de manifiesto las posibles diferencias en relación a la especie. Los resultados, altamente significativos, se muestran en la Figura 36.

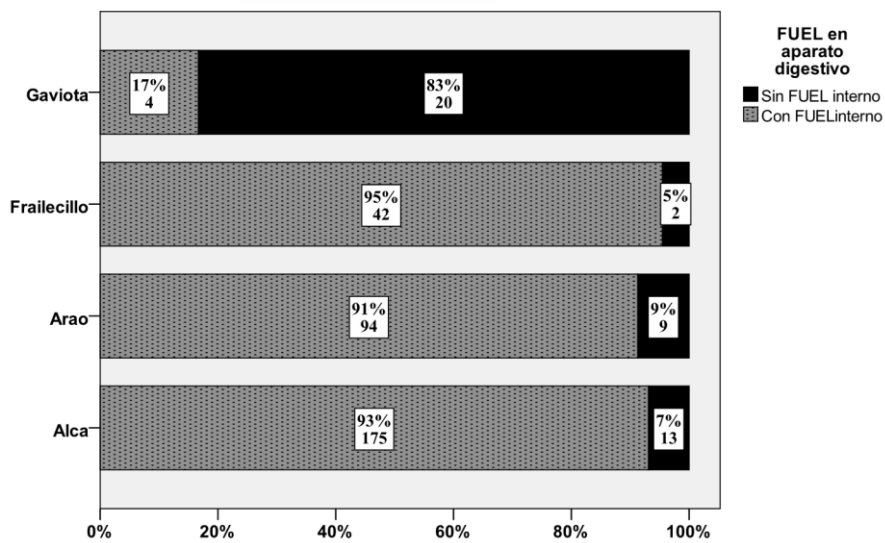


Figura 36. Presencia o ausencia de fuel en el tubo digestivo según la especie. En las casillas se muestra el porcentaje y el número de aves afectadas (parte inferior).

La relación entre la presencia de fuel en el aparato digestivo y la especie de ave arroja un valor de la prueba de Chi-cuadrado de 73.594 (razón de verisimilitud), siendo el valor de $p < 0.001$.

Comprobamos que las gaviotas apenas ingieren fuel en comparación con el grupo de los ácidos. Esto se explica por el comportamiento etológico de la gaviota que se alimenta de restos y pesca muy superficialmente, en comparación con alcas, araos y frailecillos que se sumergen, en ocasiones a grandes profundidades para conseguir el alimento.

Diversos hallazgos sugieren que las aves marinas pueden consumir de forma intencionada, elementos extraños a su dieta normal, por ejemplo, los paños de la familia de los hidrobátidos tienden a consumir ciertos desechos de petróleo que se pueden encontrar en el proventrículo y molleja una vez muertos, pudiendo llegar a regurgitarlos (**Boersma, 1986**). En otro estudio llevado a cabo durante varios años en las costas de Alemania, se propuso como la causa de muerte de los araos la ingestión de petróleo (**Petermann et al., 1989**). También en Japón, se han encontrado aves marinas capaces de ingerir grandes cantidades de residuos plásticos (**Baba, 1994**).

En aves petroleadas arao aliblanco (*Cephus grylle*) y gaviotas argéneas (*Larus argentatus*), se observó aumento en los niveles séricos de tirosina y corticosterona, incluso hasta 2 semanas después de la ingestión, interpretándose este desequilibrio hormonal como una de las causas del menor crecimiento asociado a la exposición de las aves marinas al crudo (**Peakall et al., 1981**).

También en patos salvajes (*Anas platyrhynchos*) a los que se administró petróleo mezclado con alimento se observó que después de los primeros dos días perdían hasta un 3.5% de su peso. No obstante, después de una semana ya no se observaron diferencias con el grupo control. Tampoco se observaron alteraciones en los niveles de corticosterona, glucosa, tiroxina, proteínas totales y ácido úrico ni en la actividad de las enzimas aminotransferasa (AST), alaninaminotransferasa (ALT) y butirilcolinesterasa (BCHE), pudiendo indicar que los patos resisten la ingesta de altas dosis de petróleo, 25 mL diarios durante una semana, sin que se observen signos de estrés (**Rattner, 1981**).

En coincidencia con nuestros resultados, algunos estudios muestran que en araos (*Uria aalge*) sin impregnación externa de fuel, hasta un 83.6% de las aves estudiadas en las costas del Mar del Norte de Alemania presentaba fuel en el intestino (**Bouquegneau et al., 2001**), proventrículo y molleja, lo cual indica que la presencia de fuel en el tubo digestivo no se debe a la ingestión accidental durante la limpieza del plumaje, sino que realmente existe una atracción de las aves marinas hacia su consumo, probablemente favorecido por el olor o la forma de éste. Otra consideración interesante, que señalan diversos autores, es que la presencia externa de fuel en aves marinas no necesariamente indica que éstas hayan muerto a consecuencia del petróleo externo si no que pueden haberse impregnado después de la muerte (**Arcos et al., 1995**).

En experimentos realizados en ánades reales o azulones (*Anas platyrhynchos*), se demostró que aceptan la ingestión de petróleo proveniente de diferentes lugares junto con el alimento, sin mostrar rechazo, en algunos casos llegando a consumir hasta el 50% de su peso en petróleo después de 100 días. Se observó que estas aves, en condiciones normales de temperatura y disponibilidad de alimento, podían sobrevivir varios días al igual que los animales del grupo control, aunque su ganancia de peso era inferior a la de las aves del grupo control, a pesar de que las aves que consumían petróleo mostraban hiperfagia. En cambio, en cuanto las aves se sometieron a condiciones de estrés como la disminución de la temperatura a 3°C de forma crónica, se demostró que la ingestión de derivados de petróleo hacía a ese grupo de aves más sensibles a la muerte, ya que morían antes y en mayor número que el grupo control, mostrando en la autopsia hiperplasia adrenal y disminución grave de los tejidos linfopiteliales (**Holmes et al., 1978**), lo que sugiere un efecto tóxico inmunosupresor de los derivados del petróleo. Posteriormente, en esta misma especie, se determinó que la mayor concentración de hidrocarburos provenientes del petróleo se acumulan en la grasa (**Gay et al., 1980**).

Otro indicio, observado en los centros de recuperación de aves, que sugiere un efecto inmunosupresor en las aves marinas afectadas por petróleo, es su predisposición a padecer infecciones secundarias por bacterias y hongos. A ello habría que sumar otros factores de estrés, como la inflamación del tracto digestivo como consecuencia de la ingestión de fuel, que provoca una mala absorción de nutrientes y empeora el efecto inmunosupresor. Los animales que han ingerido derivados de petróleo presentan una disminución de la capacidad de fagocitar o destruir bacterias patógenas, siendo la inmunidad mediada por células la más afectada (**Briggs et al., 1997**).

En ánades reales (*Anas platyrhynchos*) a los que se administró 3% de petróleo por vía oral, se observaron niveles menores de corticosterona en plasma hasta 500 días del experimento; estos niveles se estabilizaron a partir de ese momento por compensación metabólica de la vía hepática del naftaleno (**Gorsline and Holmes, 1981**). Esta relación entre la ingestión de fuel y un metabolismo acelerado de los corticoides de la corteza suprarrenal se ha puesto en entredicho por otros autores en estudios posteriores (**Briggs et al., 1997**), ya que este efecto también se observa en aves salvajes sometidas a cualquier estudio experimental, por lo cual parece estar más relacionado con el estrés en la manipulación de las aves en el experimento, o durante la limpieza y tratamientos en el centro de recuperación, que con la ingestión de derivados del petróleo.

En nuestro estudio, con el fin de relacionar la ingestión de fuel con el tipo de impregnación externa, realizamos una tabla de contingencia de 2x3 variables, cuyos resultados quedan reflejados en la Figura 37.

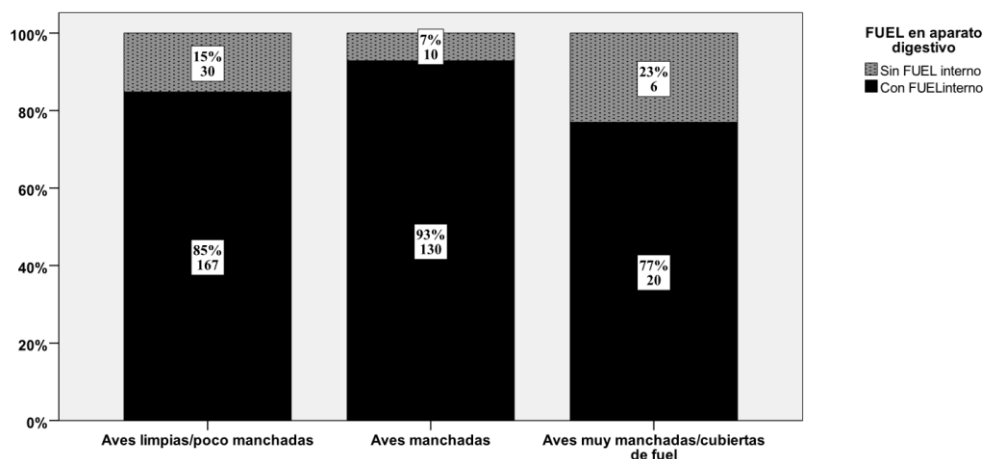


Figura 37. Relación entre la impregnación externa de fuel y el contenido de fuel en el aparato digestivo. En las casillas se muestra el porcentaje y el número de aves afectadas (parte inferior).

Para conocer la relación entre la presencia de fuel en el tubo digestivo y el tipo de impregnación externa de las aves llevamos a cabo la determinación de Chi-cuadrado utilizando el método de la razón de verosimilitud ($\chi^2 = 7.717$; $p = 0.021$). En la comparación por pares aparecieron diferencias significativas solamente entre el grupo de aves manchadas y cubiertas ($\chi^2 = 6.329$; $p = 0.011$). Se aplicó la corrección Bonferroni: $\alpha = 0.05/3 = 0.0167$, lo cual implica el considerar un valor estadísticamente significativo por debajo de 0.0167.

De la interpretación de la Figura 37 se puede concluir que en los grupos de aves limpias y manchadas hay una ingestión de fuel muy elevada y, aunque es mayor el número de aves que han ingerido fuel en el grupo de aves manchadas, esas diferencias no son significativas en comparación con el grupo de aves limpias. Esto implica que las aves no han ingerido accidentalmente el fuel para limpiarse el plumaje, como se ha sugerido en otros trabajos de investigación de otros vertidos, sino que lo han ingerido porque lo han consumido como un alimento y, posiblemente, agradable. Así mismo, que el grupo de aves muy manchadas o cubiertas tenga un número significativamente menor de animales que hayan ingerido petróleo en comparación con el grupo de aves manchadas posiblemente pueda deberse a la muerte muy rápida con la imposibilidad de abrir el pico, o de volar, en las aves más cubiertas.

Sólo una de las aves que ingirió fuel presentaba áreas de necrosis en la molleja tras retirarle la capa de queilina, mientras que en 12 aves (3%), observamos hemorragias en el tubo digestivo, de forma difusa o en forma de petequias, en 6 de las cuales las hemorragias se acompañaban de fuel (Figura 38). Debido al escaso porcentaje de animales que presentaron estas lesiones, no podemos considerarlas como un efecto específico de la ingestión de fuel.

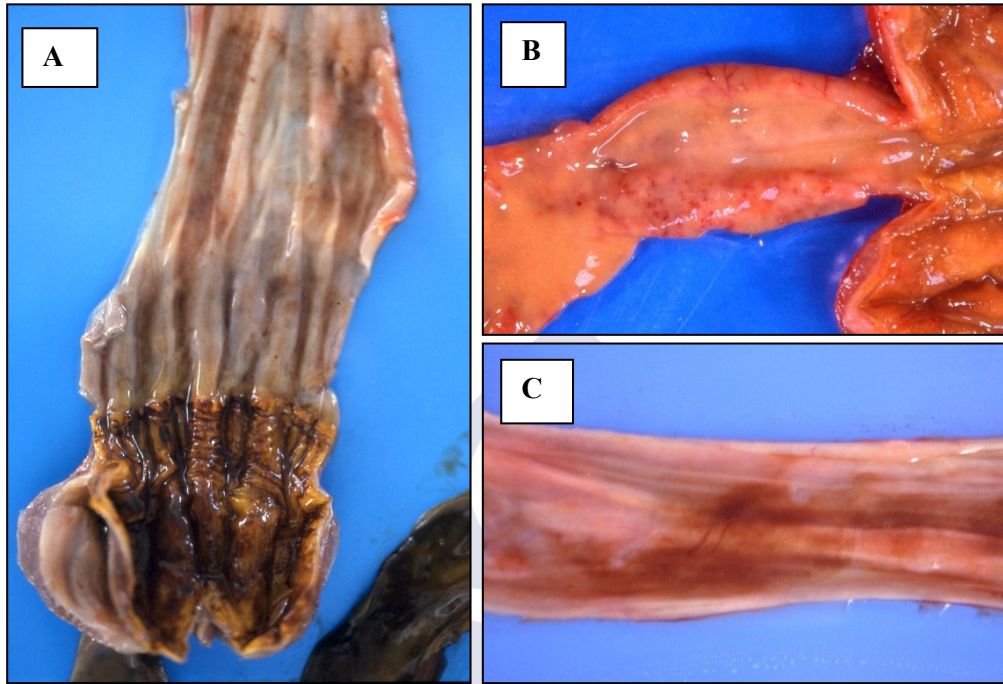


Figura 38. (A) Hemorragias difusas en el proventrículo y en la molleja bajo la capa de queilina en un arao. (B) Presencia de petequias en duodeno en un alca. (C) Hemorragia intestinal difusa en un alca.

En un estudio realizado en gaviotas y frailecillos a los que se les administró fuel de forma experimental se observó que defecaban cantidades importantes de fuel a los 10 o 15 minutos después de recibir la dosis. Las gaviotas, en comparación con los frailecillos, consumieron menos alimento y perdieron más peso. Se observaron lesiones y signos clínicos en aquellas aves que ingirieron al menos 10 mL de fuel por kg de peso vivo y día, durante 4-5 días, que se clasificaron en dos grandes grupos: 1) lesiones compatibles con un proceso hemolítico consistentes en presencia de formas de eritrocitos anormales (anisocitosis, poiquilocitosis, reticulocitosis, cuerpos de Heinz), aumento de la hemocatéresis o destrucción de eritrocitos en hígado y bazo, reabsorción de pequeñas gotas de hemoglobina en las células de los túbulos proximales del riñón e hiperplasia eritroidea en la médula ósea, lo que sugiere un efecto oxidativo tóxico primario del fuel sobre los eritrocitos (Leighton, 1985, 1986) y 2) un grupo de lesiones inespecíficas relacionadas con el estrés: depleción de linfocitos en la bolsa de Fabricio, aumento de la relación heterófilos: linfocitos en sangre periférica, depleción lipídica y necrosis de las células esteroideogénicas adrenales.

En otro estudio realizado con alcas rinoceronte (*Cerrorhinca monocerata*) a las que se les administró fuel por vía oral, se observó anemia hemolítica durante toda la duración del experimento, tanto en las aves que ingirieron el petróleo, como en las aves del grupo control, lo que sugiere que la anemia hemolítica tradicionalmente considerada como un efecto tóxico directo oxidativo del fuel sobre los hematíes, puede ser provocada por causas multifactoriales como la edad, el estrés de cautividad, etc. (Newman *et al.*, 1999).

2.4. Parasitación digestiva en las aves objeto de estudio

En un número importante de individuos, 115 animales, que representan un 27.8% del total de aves estudiadas, se observó parasitación por Ascáridos en el esófago y proventrículo; parásitos que en estudios posteriores fueron identificados como especies de *Contraecum* (Figura 39).

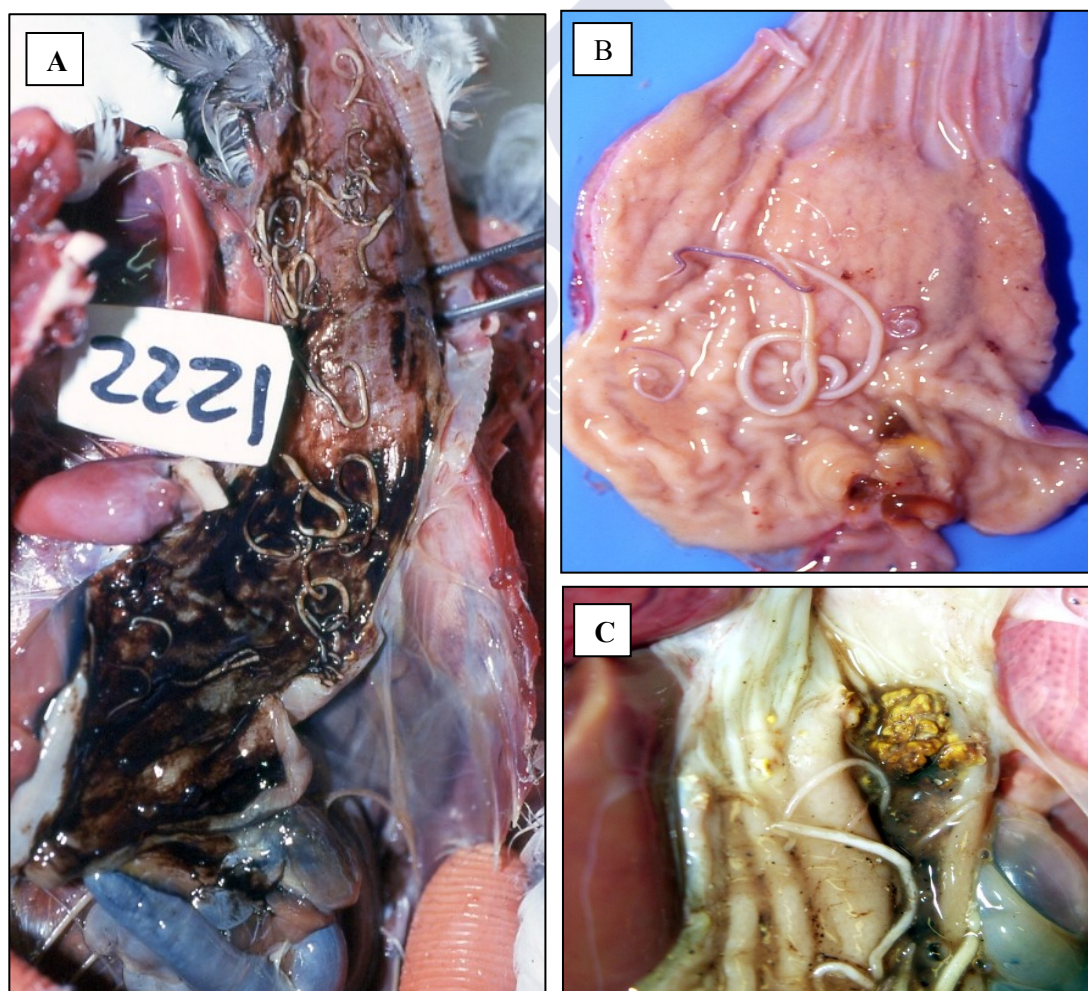


Figura 39. Nematodosis intestinal. (A) Alca con multitud de ejemplares de *Contraecum sp* y fuel en proventrículo y esófago. **(B)** Dos larvas adultas y varias larvas juveniles en la mucosa del proventrículo en un cormorán, sin lesiones macroscópicas asociadas a la presencia de los nematodos. **(C)** Úlcera fibrino-necrótica en la mucosa del proventrículo en un alca asociada a la presencia de parásitos nematodos.

De estas aves parasitadas un 43.1% no presentaba lesiones macroscópicas asociadas a la presencia de los nematodos (Figura 39 B) frente al 56.9% restante que sí presentaba lesiones tales como hemorragia en un porcentaje pequeño de animales (2.9% de las aves parasitadas) y desarrollo de úlceras digestivas en el 50% de las aves parasitadas; se trataba de úlceras fibrinonecróticas, de consistencia firme y color marrón amarillento que hacían prominencia sobre la mucosa del proventrículo (Figura 39 C).

Sólo 7 aves (1.9%) presentaron inflamación asociada a engrosamiento de la mucosa del proventrículo en respuesta a la presencia de los nematodos (Figura 40).

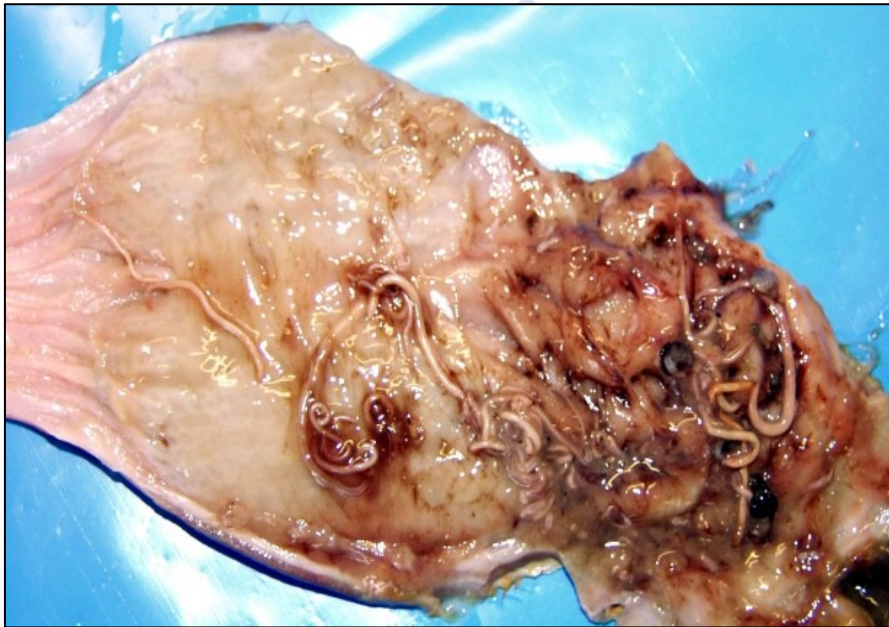


Figura 40. Nematodosis intestinal. Cormorán con inflamación severa, engrosamiento de la mucosa y hemorragias del proventrículo asociadas a la presencia de nematodos.

La presencia de larvas y ascáridos adultos en el tubo digestivo de diversas especies de aves marinas ha sido descrita por otros autores, siendo considerado el proventrículo como el lugar natural de infección parasitaria en aves salvajes (Abollo *et al.*, 2001); en nuestro estudio, la presencia de nematodos parásitos en el esófago podría ser debida a una migración *postmortem* desde el proventrículo.

En nuestro estudio, el mayor porcentaje de parasitación por especies correspondía a las alcas (89 de 131 aves, 40.5%), seguidas de los frailecillos (9 de 42 aves, 17.6%) y araos (4 de 99 aves, 3.9%), siendo nula la parasitación por ascáridos en gaviotas (0 de 43 aves), tal y como se aprecia en la Figura 41.

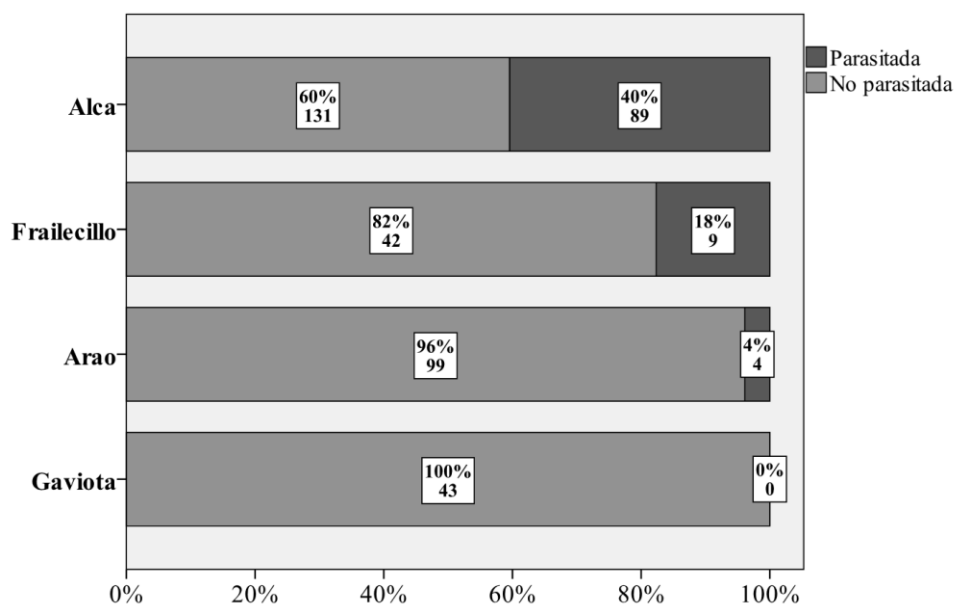


Figura 41. Parasitosis intestinal por especie de ave. En las casillas se muestra el porcentaje y el número de aves afectadas (parte inferior).

Dada la dificultad para la identificación de los parásitos a partir de secciones histológicas, llevamos a cabo la recogida de ejemplares de los nematodos intestinales durante la necropsia de las aves, los cuales se fijaron, incluyeron y seccionaron en parafina, a diferentes niveles y en distintos planos, siguiendo las técnicas histológicas de rutina, con objeto de reproducir las múltiples posibilidades que después hallaríamos en las secciones histológicas del tubo digestivo de las aves, para así facilitar su identificación.

Los nematodos aislados y recogidos directamente del tubo digestivo de las distintas especies de aves objeto de este estudio presentaban una coloración blanco amarillenta a lo largo del cuerpo, el cual era alargado, sin segmentación y puntiagudo en sus extremos; las hembras mostraron un mayor desarrollo que los machos (Figura 42).

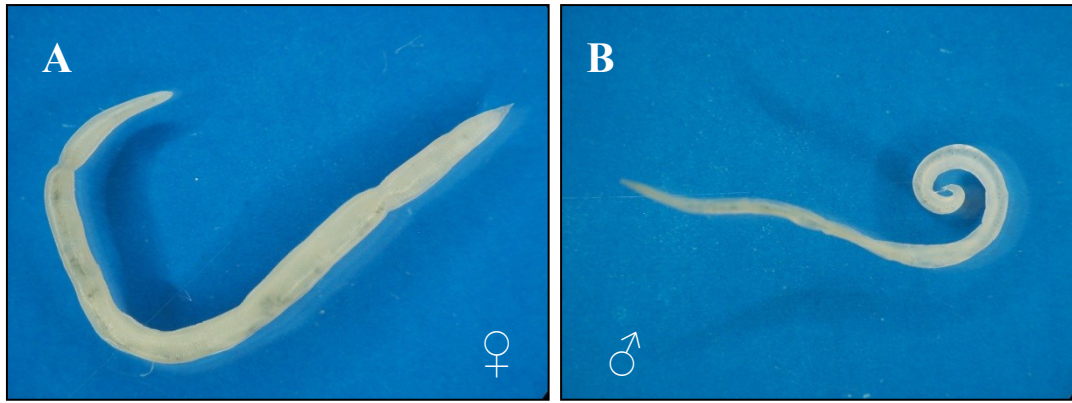


Figura 42. Ejemplares adultos de *Contracaecum rudolphii* obtenidos del tubo digestivo de aves petroleadas tras el accidente del *Prestige*. (A) Hembra. (B) Macho.

La observación de los parásitos con el estereomicroscopio y el microscopio óptico mostró rasgos característicos de nematodos del grupo de los ascáridos pertenecientes al género *Contracaecum*, en concordancia con los rasgos morfológicos identificadores descritos por otros autores (**Gibbons, 1974**); tales como el poro excretor abriéndose, inmediatamente por debajo de la base del interlabio (Pe en Figura 43A), el tubo digestivo presente en la región media y caudal constituido por un ventrículo pequeño y esférico (V en Figura 43B) seguido del apéndice ventricular (Av en Figura 43B) y el intestino que, en este género, presenta un ciego intestinal (Ci en Figura 43C). El esófago de los nematodos de las aves que habían ingerido fuel, también aparecía lleno de fuel (Figura 43D). Los nematodos machos presentaban un extremo posterior de forma curva y con dos espículas saliendo del orificio cloacal (Figura 43E), que los diferenciaba claramente de las hembras, cuyo extremo posterior cónico carecía de espículas (Figura 43F).

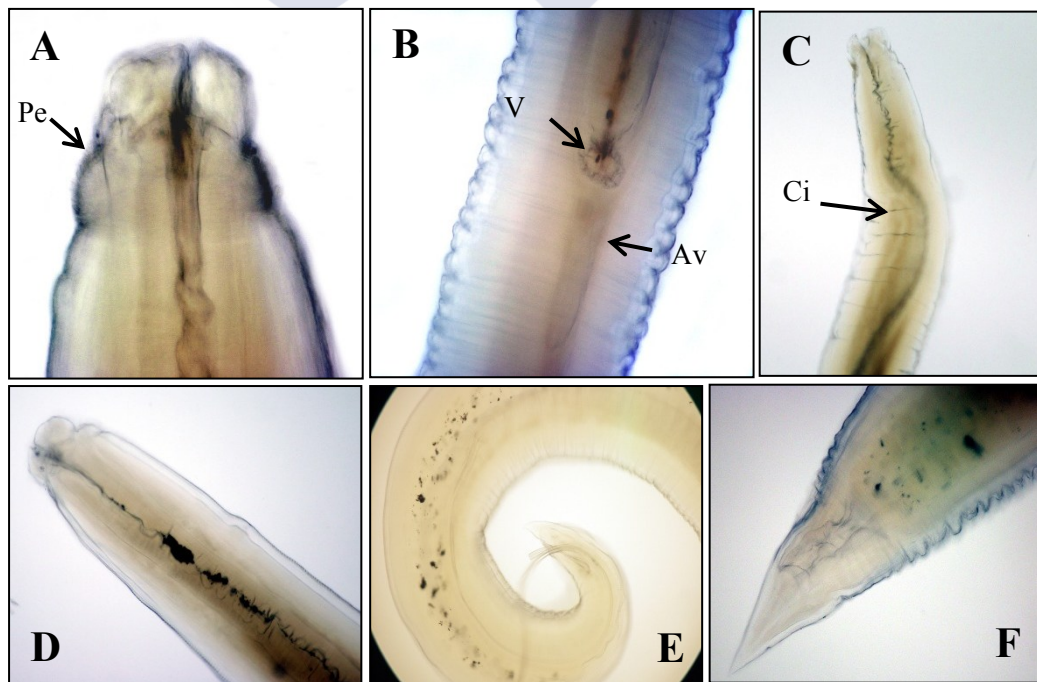


Figura 43. Rasgos morfológicos identificativos de *Contracaecum sp.* (A) Poro excretor (Pe). (B) Ventrículo (V) y Apéndice ventricular (Av). (C) Ciego intestinal (Ci). (D) Esófago lleno de fuel. (E) Extremo posterior de un macho. (F) Extremo posterior de una hembra.

Con el Microscopio Electrónico de Barrido pudimos identificar la especie de *Contracaecum* teniendo en cuenta la morfología del extremo anterior y la presencia y distribución de las papilas anales del extremo posterior (Fagerholm, 1988; Shamsi *et al.*, 2011) (Figura 44).

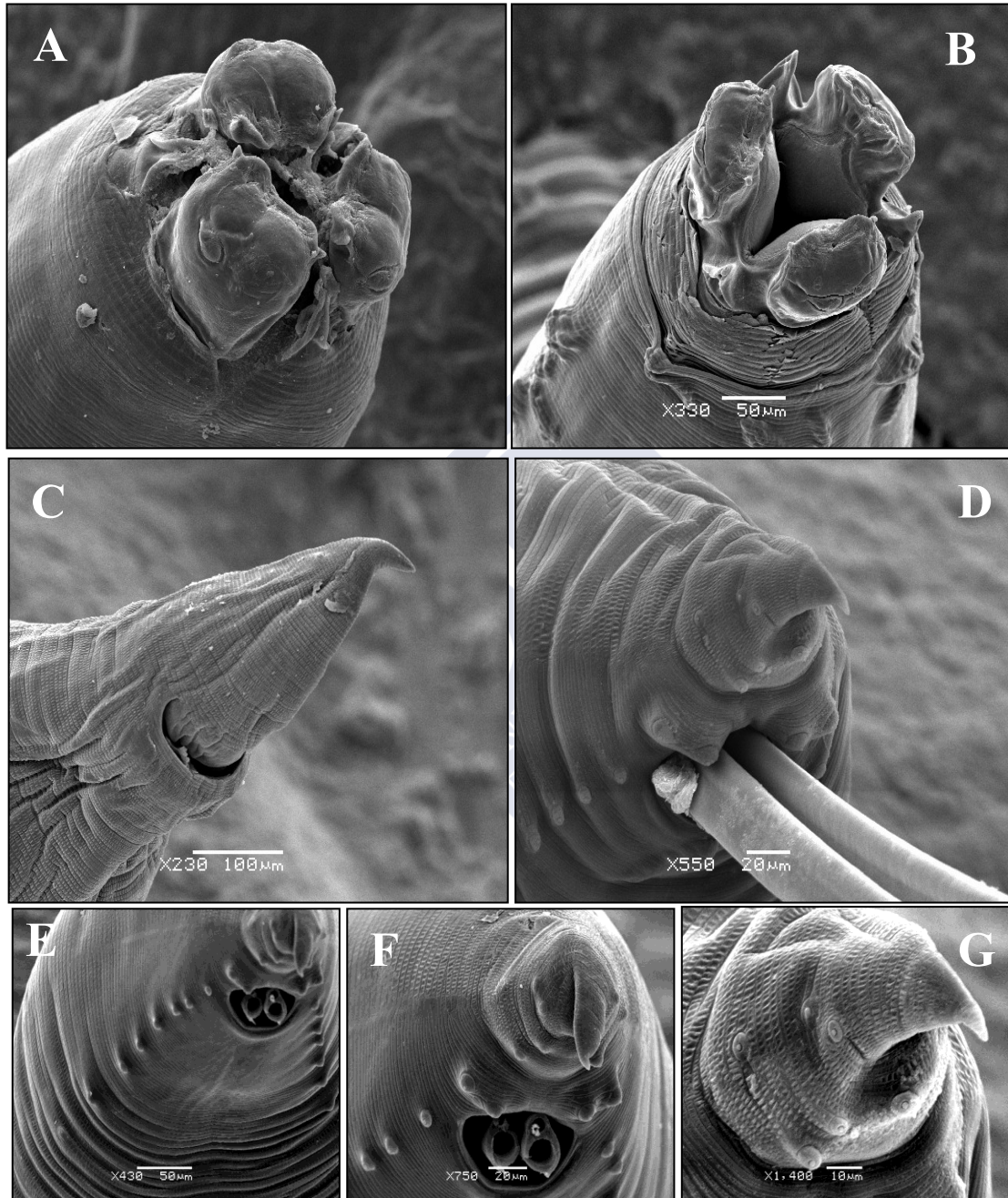


Figura 44. Identificación ultraestructural de *Contracaecum rudolphii* con el Microscopio Electrónico de Barrido. (A, B) Extremo anterior cerrado (A) y abierto (B). (C, D) Extremo anal en una hembra (C) y un macho (D). (E) Papilas precloacales. (F) Papilas paracloacales. (G) Papilas distales.

El extremo anterior de los ascáridos hallados en las aves presentaba 3 labios perfectamente visibles con el extremo oral cerrado (Figura 44A) y 3 interlabios bien diferenciados y visibles cuando el extremo oral se encontraba abierto (Figura 44B). El examen del extremo anal permitió la identificación de la especie de *Contracaecum*; en las hembras, el extremo anal presentaba una abertura cloacal sin diferenciaciones (Figura 44C), mientras que en los machos, del interior de la cloaca surgían dos espículas redondeadas (Figura 44D); la observación de 9 pares de papilas precloacales (Figura 44E), 2 pares de papilas paracloacales (Figura 44F) y 5 (3 + 2) pares de papilas distales (Figura 44G) nos permitieron identificar a los parásitos digestivos de las aves objeto de estudio como ejemplares de la especie *Contracaecum rudolphii*.

El género *Contracaecum sp.* es el más numeroso de la familia *Anisakidae*; la parasitación digestiva por *Contracaecum rudolphii* (Hartwich, 1964), en un primer momento identificado como *Contracaecum spiculigerum* (Tomas, 1937) (**Dziekońska-Rynko and Rokicki, 2007**), ha sido registrada en aves marinas de diferentes zonas del mundo, como Chile (**Torres et al., 1983**), Zimbabwe (**Barson and Marshall, 2004**), Polonia (**Biedunkiewicz et al., 2012**), Australia (**Shamsi et al., 2009**), el Golfo de México (**D’Amelio et al., 2012**) o Brasil (**Melo et al., 2012**).

En la actualidad, las pruebas genéticas realizadas en estos nematodos describen dos variedades europeas *Contracaecum rudolphii A* y *B*, pudiendo haber una coexistencia entre ambas (**Szostakowska and Fagerholm, 2012**); también se describen las especies *C* y *D* en Australia (**Shamsi et al., 2009**). En algunos estudios se han llegado a demostrar suficientes diferencias genéticas entre los ejemplares de *Contracaecum rudolphii* como para considerarlos como una nueva especie *Contracaecum bioccai* (**Mattiucci et al., 2008**).

El ciclo biológico de *Contracaecum rudolphii* ha sido descrito de forma incompleta por muchos autores hasta el año 1996, en el que Bartlett descubre a las aves marinas como hospedador definitivo de este nematodo parásito, habiendo sido identificado hasta en 58 especies de aves distintas (**Kanarek and Bohdanowicz, 2009**). Los ejemplares adultos se alojan en el tracto digestivo del hospedador definitivo, que adquiere el parásito tras la ingestión de hospedadores intermediarios, peces y libélulas, parasitados por larvas 3 (L3); en el hospedador definitivo, las larvas L3 maduran a un estadio L4 y luego a adultos. Las hembras eliminan los huevos en el tubo digestivo, que son expulsados al ambiente a través de las deyecciones de las aves; en el exterior, los huevos son ingeridos por copépodos y anfípodos, considerados como hospedadores paraténicos (**Dziekońska-Rynko and Rokicki, 2007; Li et al., 2013**) (Figura 45).

Entre las especies de aves marinas piscívoras, muchos autores describen a la familia *Phalacrocorax sp* como uno de los principales hospedadores definitivos de *Contracaecum rudolphii*, sobre todo en animales adultos (**Torres et al., 2005**), habiéndose encontrado poblaciones con el cien por cien de las aves parasitadas (**Kanarek, 2010; Monteiro et al., 2011**); en Europa *Phalacrocorax aristotelis*

y *Phalacrocorax carbo* junto con patos acuáticos *Mergus manganser* y *Mergus serratusse* se han señalado como los hospedadores definitivos más importantes (Dziekońska-Rynko and Rokicki, 2007).

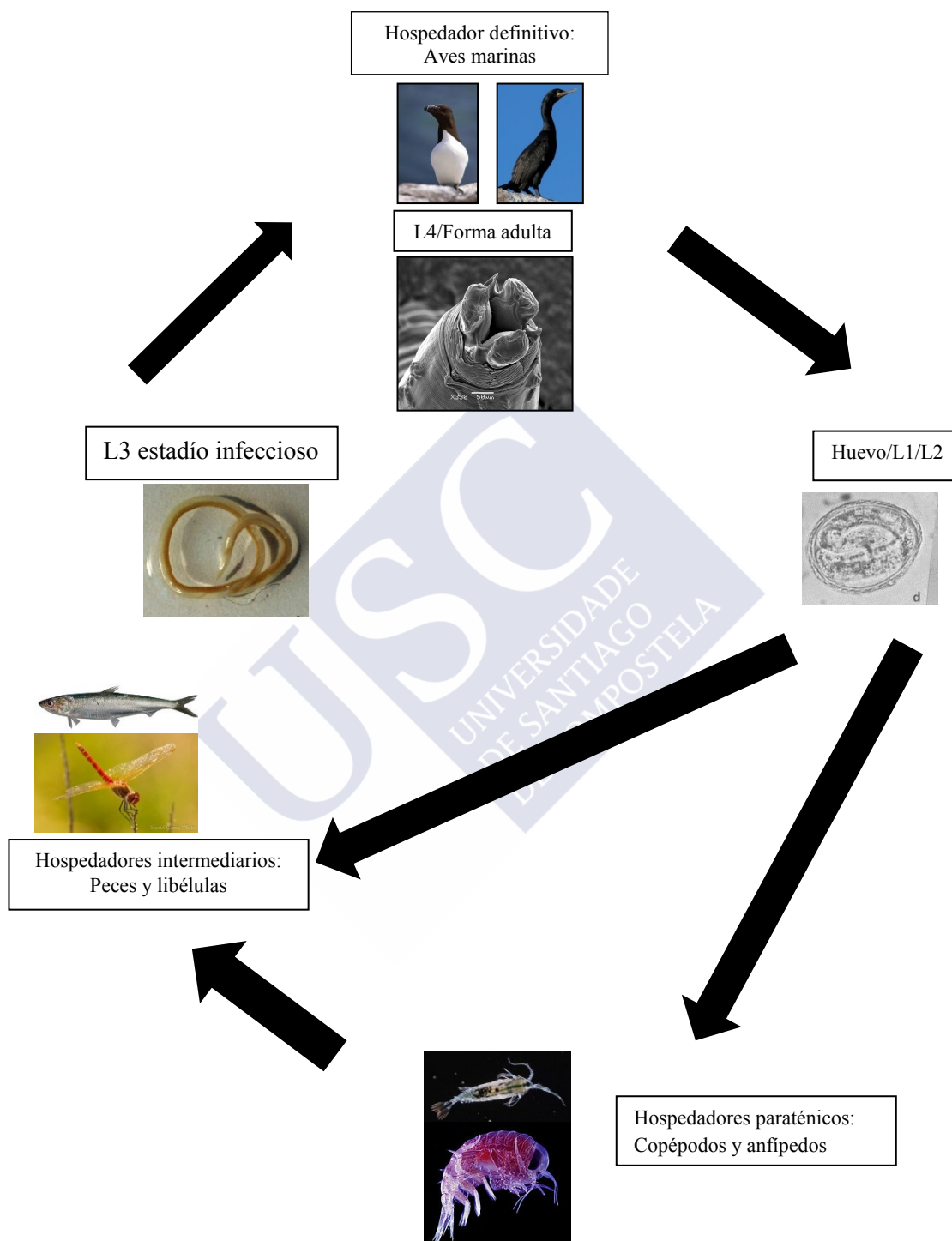


Figura 45. Ciclo biológico de *Contracaecum rudolphii* sp. Los huevos que se encuentran en el agua, son ingeridos por los hospedadores paraténicos de la familia de los copéodos y anfípedos, o directamente por los peces y libélulas. En estos se formarán los estadios larvarios L2/L3, que infestarán al hospedador definitivo, las aves marinas, tras su ingestión, completando el ciclo parasitario.

Estudios llevados a cabo en Galicia, determinaron que *Contraecum rudolphii* C estaba presente en *Phalacrocorax aristotelis* y *Contraecum septentrionale* en *Alca torda*, no siendo las especies A y B responsables de la anisakiosis en humanos, aunque podrían suponer un potencial contaminante (Li *et al.*, 2005); para algunos autores, el cambio climático puede hacer que estos nematodos afecten a otros animales convirtiéndolos en hospedadores definitivos (Klimpel and Palm, 2011).

En la actualidad, en aves silvestres como *Phalacrocorax aristotelis* se evalúa de forma sistemática la parasitación por *Contraecum rudolphii* mediante endoscopia, para medir el daño producido por estos nematodos, a la vez que se desparasitan mediante el tratamiento con ivermectina, evitando así el sacrificio inútil de animales para la simple cuantificación del grado de parasitación (Burthe *et al.*, 2013).

La presencia de este parásito en *Phalacrocorax carbo* se ha asociado a gastritis ulcerativa severa que, sin embargo, no afectaba a la condición corporal de las aves estudiadas (Biedunkiewicz *et al.*, 2012; Rokicki *et al.*, 2011), haciendo suponer que la relación parásito-hospedador entra en un equilibrio, sin que llegue en ningún caso a ser la causa de muerte de las aves.

2.5. Sistema urinario

Durante la necropsia, en el momento de observar los riñones, se determinó el sexo de las aves.

En cuanto a las lesiones macroscópicas observadas en riñón, 14 aves (3.5%) presentaban una coloración anormalmente pálida asociada a un discreto aumento de su tamaño (Figura 46A), mientras que sólo 7 aves (0.8%) mostraba imbibición *postmortem* por fuel en la superficie de contacto con el intestino cuando estaba lleno de petróleo.

Tan sólo 2 aves presentaron coloración negruzca de los riñones, como consecuencia de la imbibición hemoglobínica típica de las anemias hemolíticas (riñón hemoglobinémico) (Figura 46B). Siete aves (0.8%) mostraron depósitos de sales de uratos, blanquecinos, en el riñón, característicos de la gota visceral, frecuentes en aves con deshidratación (Figura 47).

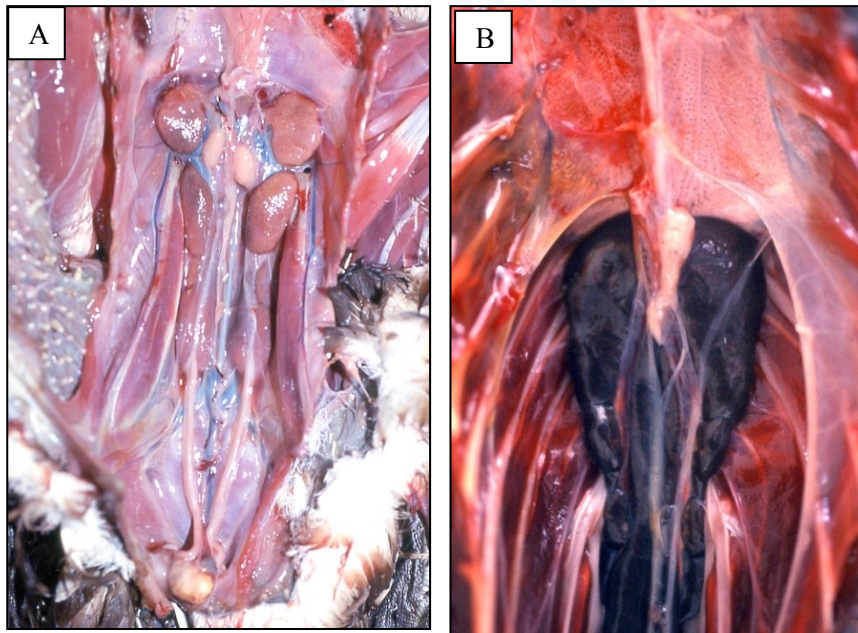


Figura 46. Lesiones macroscópicas del aparato urinario. (A) Riñones muy pálidos en un alcatraz. **(B)** Riñones hemoglobinémicos en un aro.



Figura 47. Depósitos blanquecinos de uratos en ambos riñones en un aro.

2.6. Sistema reproductivo

En las especies que muestra la Figura 48, alcas, aros, frailecillos y gaviotas, encontramos un porcentaje significativamente mayor de hembras con respecto a los machos, posiblemente en relación con las costumbres y flujos migratorios característicos de estas especies.

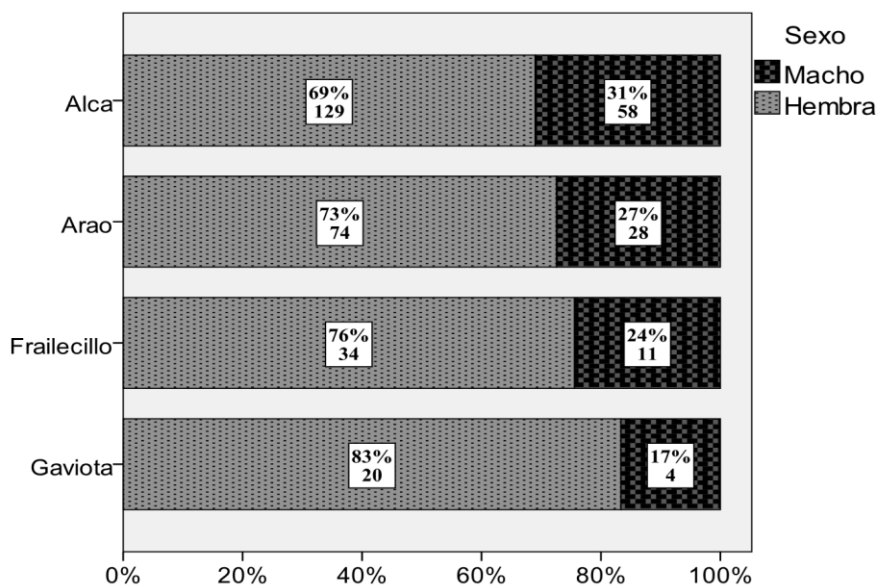


Figura 48. Especies de aves divididas por sexos. En las casillas se muestra el porcentaje y el número de aves afectadas (parte inferior).

Estas diferencias entre ambos sexos a favor de las hembras, en la población estudiada, resultaron significativas para las cuatro especies, con unos valores de Chi-cuadrado para las alcas de $\chi^2 = 26.95$; $p < 0.001$, para los araos de $\chi^2 = 20.745$; $p < 0.001$, para los frailecillos de $\chi^2 = 11.756$; $p = 0.001$ y para las gaviotas de $\chi^2 = 9.783$; $p = 0.002$.

En estudios experimentales de patos alimentados de manera crónica con fuel se observó una disminución del tamaño de los órganos sexuales en las hembras, considerándose como una consecuencia de la ingestión del petróleo (Coon and Dieter, 1981). También se ha observado que las aves afectadas por vertidos de fuel que han sido tratadas en centros de rehabilitación y estudiadas en los dos años posteriores, son incapaces de criar, posiblemente por el efecto inmunosupresor de las sustancias petroquímicas ingeridas, asociado al estrés de la rehabilitación que también contribuye a disminuir las defensas por efecto de los glucocorticoides (Briggs et al., 1997; Briggs et al., 1996). En halcones peregrinos del País Vasco se observó que la alimentación con presas contaminadas como consecuencia del vertido del *Prestige* ha supuesto una menor eficiencia reproductora, bien sea por alteración de las gónadas, por efectos letales en los embriones del huevo o por debilidad de los pollos nacidos que favorece el desarrollo de patologías a largo plazo (Zuberogoitia, 2003; Zuberogoitia et al., 2006).

En experimentos llevados a cabo en ánades reales (*Anas platyrhynchos*) sometidos a la ingestión de petróleo también se observó una disminución de la capacidad reproductiva y un menor grosor de la cáscara del huevo, trastornos que se normalizaron tras retirar el petróleo de la dieta (Harvey et al., 1982).

En nuestro estudio, al tratarse de animales muertos por toxicidad aguda, no hemos podido relacionar ningún trastorno reproductivo con el vertido del *Prestige* ya que no hemos llevado a cabo un seguimiento de las aves recuperadas tras la rehabilitación y reinsertión de los animales en el medio natural.

2.7. Sistema nervioso central

Cuatro aves (1%) estudiadas presentaban congestión y hemorragia en el sistema nervioso central (SNC), afectando al cerebro y cerebelo, en todos los casos asociados a un cuadro congestivo-hemorrágico generalizado que afectaba incluso al tejido óseo esponjoso del cráneo (Figura 49).

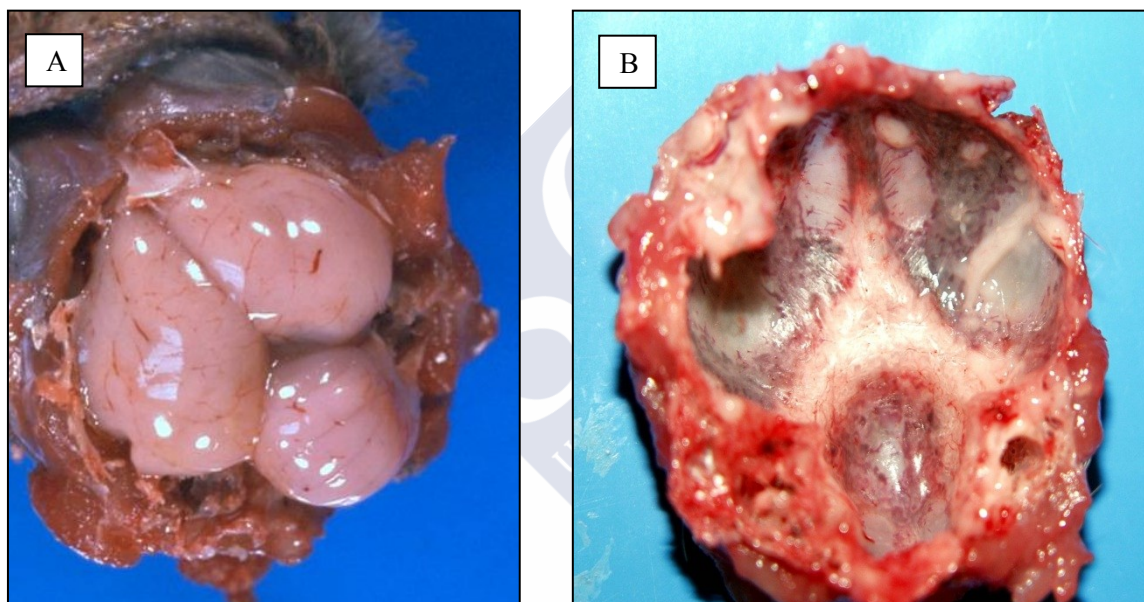


Figura 49. (A) Cerebro y cerebelo de un alca mostrando congestión y sufusiones hemorrágicas subaracnoideas. (B) Severa hemorragia en la parte esponjosa de los huesos del cráneo en una gaviota que presentaba un cuadro hemorrágico generalizado.

3. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

3.1. Hemosiderosis

El examen histopatológico de los órganos y tejidos reveló una deposición importante de hierro en forma de hemosiderina en los macrófagos y células reticuloendoteliales de la pulpa roja del bazo (Figura 50), en las células de Kupffer del hígado, e incluso en los hepatocitos (Figura 51).

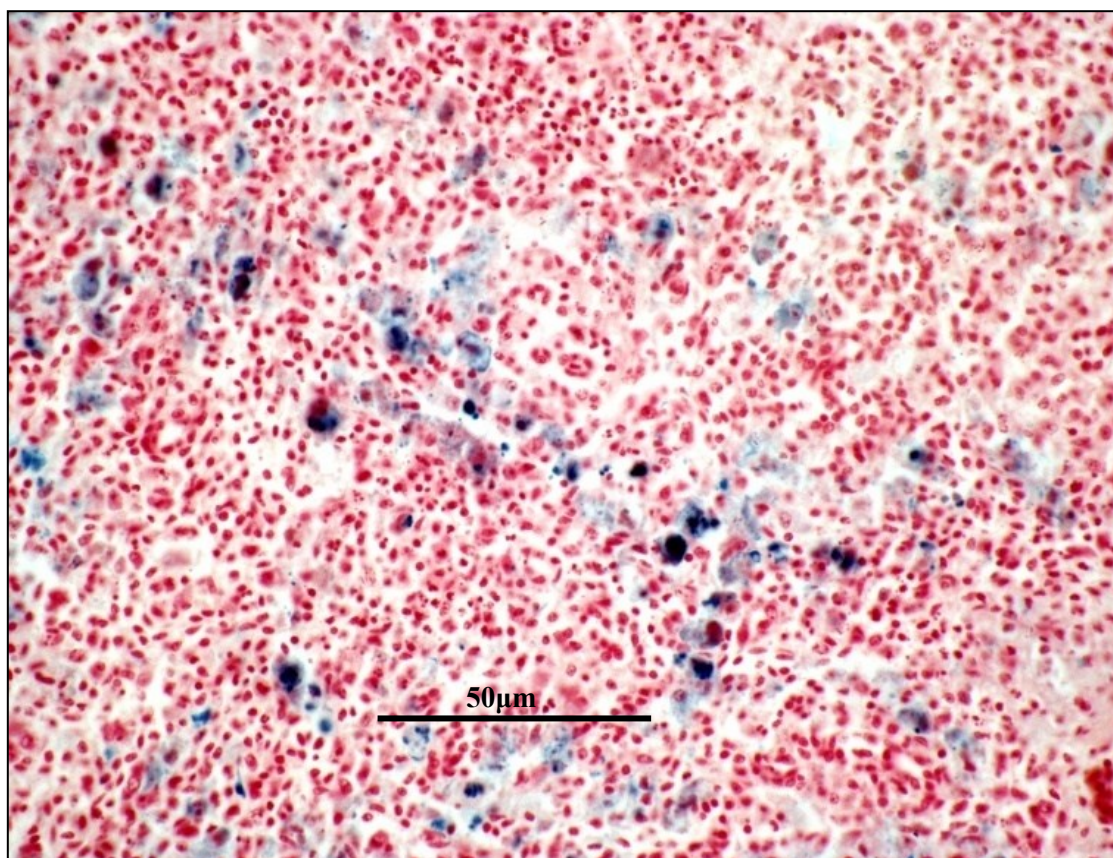


Figura 50. Hemosiderosis esplénica en un alca. Tinción de Perls. 400X. Observar los precipitados de hemosiderida, de color azul intenso, en el citoplasma de los macrófagos, y más tenue en el citoplasma de las células reticuloendoteliales de la pulpa roja del bazo.

También se observaron estos depósitos de hierro en las células epiteliales de los túbulos contorneados proximales del riñón (Figura 52). La presencia de depósitos de hemosiderina en los órganos estudiados se reveló en forma de precipitados permanentes de color azul, tras la tinción histoquímica sistemática del hígado, riñón y bazo, de las aves objeto de estudio, con el método de Perls (Azul de Prusia).

La presencia de depósitos de hierro en las células del sistema reticuloendotelial y, con menor frecuencia, en las células parenquimatosas del hígado y riñón, se relaciona con la destrucción

excesiva de eritrocitos tras una hemorragia, un proceso hemolítico infeccioso, infección con parásitos hematófagos o la exposición a sustancias tóxicas hemolíticas (**Khan and Nag, 1993**).

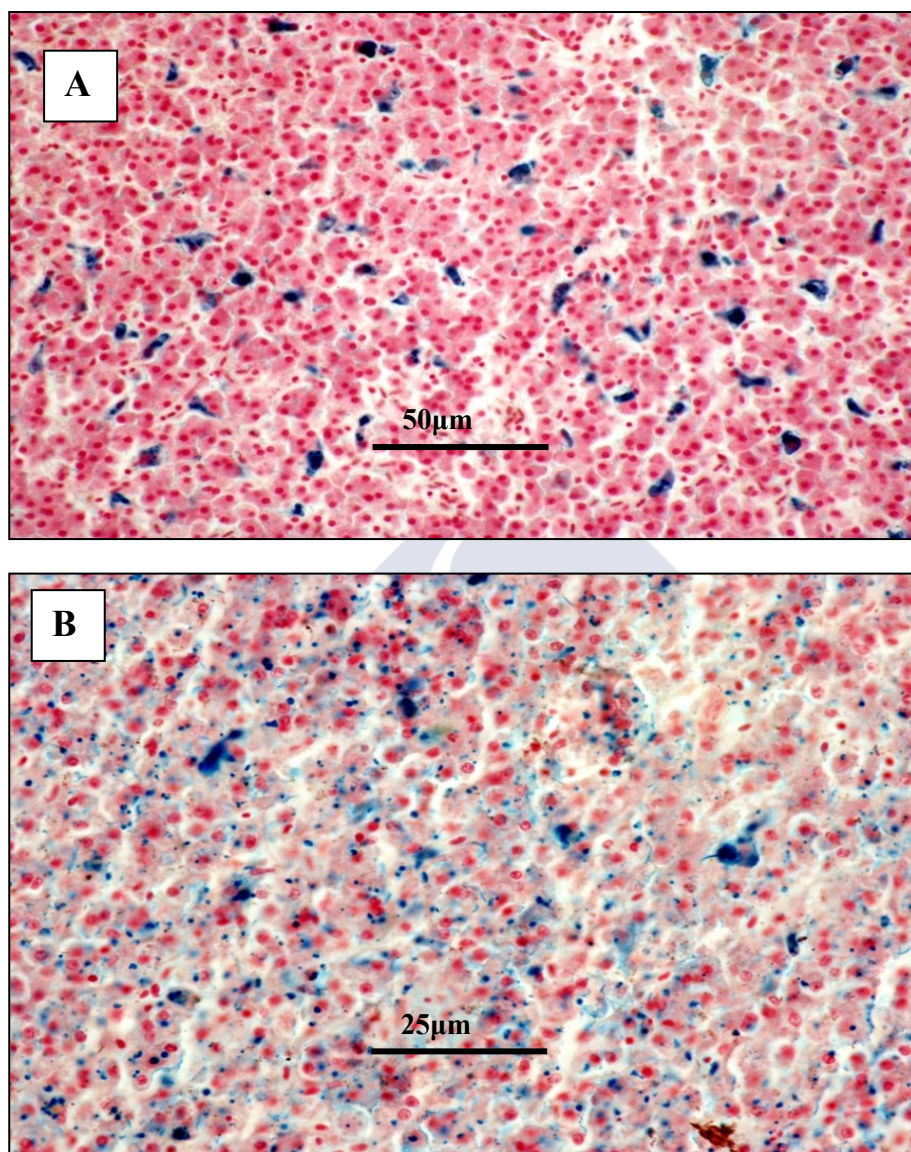


Figura 51. Hemosiderosis hepática. Tinción de Perls. **(A)** Hígado de alca, 400X. Abundantes precipitados de hierro de color azul intenso en el citoplasma de las células de Kupffer. **(B)** Hígado de arao, 600X. Severa hemosiderosis en la cual los precipitados no solamente se observan en las células de Kupffer, sino también en el citoplasma de los hepatocitos.

La anemia hemolítica en aves marinas inducida por la ingestión de crudo se ha demostrado a partir de los 4 a 5 días de la ingestión (**Leighton et al., 1983**), llegando a ser visibles los depósitos de hemosiderina en el hígado de araos hasta 42 días después de la contaminación con fuel (**Khan and Ryan, 1991**). De hecho, en aves marinas se considera que la presencia de depósitos masivos de

hemosiderina en los tejidos es un indicador muy útil de hemorragia y/o anemia hemolítica tras la exposición al fuel (Khan and Nag, 1993). Para algunos autores (Khan and Nag, 1993; Leighton *et al.*, 1983), a mayor consumo de petróleo, más grave es la anemia inducida.

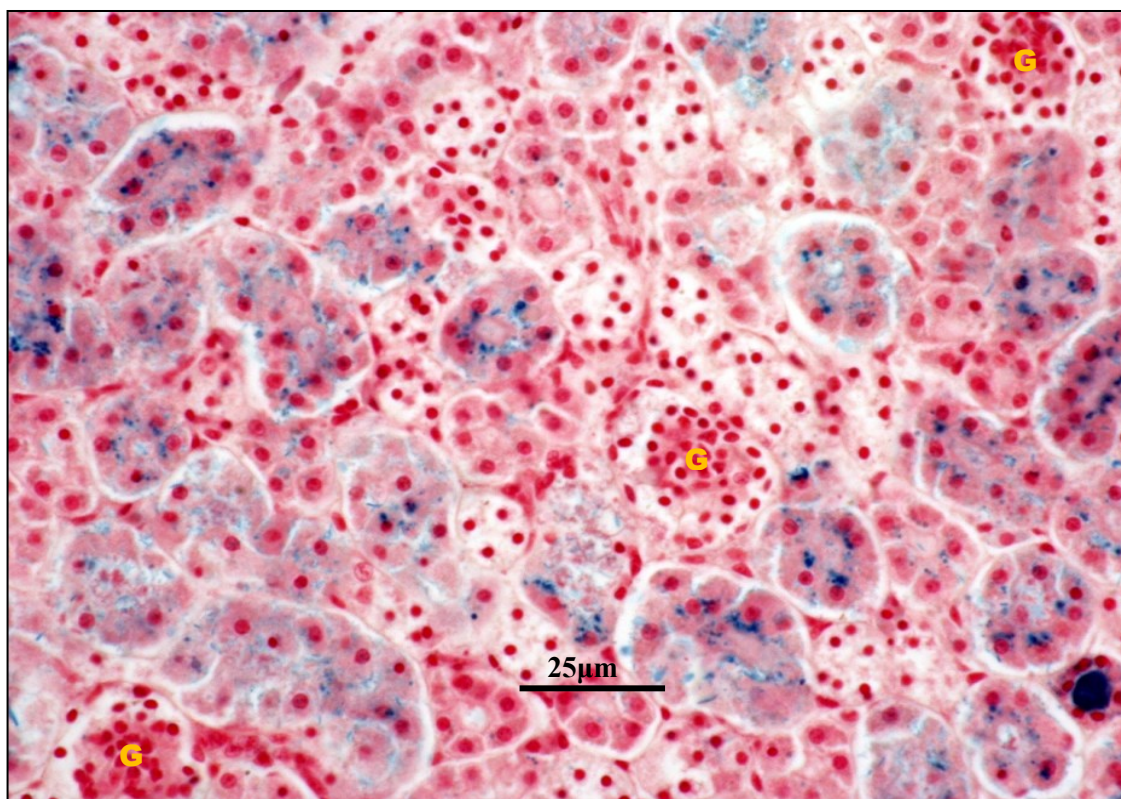


Figura 52. Hemosiderosis renal. Alca. Tinción de Perls. 600X. Observar los precipitados azules de hemosiderina en el citoplasma de las células epiteliales de los túbulos contorneados proximales. G, glomérulo.

En gaviotas y frailecillos se indujo experimentalmente anemia hemolítica primaria tras la administración de petróleo crudo, a partir de 10 mL/kg/día, durante 4 ó 5 días (Leighton *et al.*, 1983); secundariamente en estas aves, se observó un aumento de la hemocatéresis de los hematíes rotos en el hígado y el bazo, asociada a hemosiderosis, así como reabsorción masiva de hemoglobina en los túbulos contorneados proximales del riñón.

Tabla 11. Presencia y grado de hemosiderosis observada en hígado y riñón según la especie.

Especie		Alca	Arao	Frailecillo	Gaviota	Total
Hemosiderosis en hígado	Negativo	3 (4.5%)	0	4 (50%)	9 (64.3%)	16 (11.2%)
	Leve	32 (47.8%)	21 (38.9%)	1 (12.5%)	4 (28.6%)	58 (40.6%)
	Moderada	8 (11.9%)	7 (13%)	1 (12.5%)	1 (7.1%)	17 (11.9%)
	Severa	24 (35.8%)	26 (48.1%)	2 (25%)	0	52 (36.4%)
Hemosiderosis en riñón	Negativo	53 (79.1%)	36 (66.7%)	8 (100%)	14 (100%)	111 (77.6%)
	Leve	14 (20.9%)	15 (27.8%)	0	0	29 (20.3%)
	Severa	0	3 (5.6%)	0	0	3 (2.1%)
Total		67	54	8	14	143

En patos negrones especulados (*Melanitta fusca*) de Japón con sospecha de intoxicación por petróleo, los valores de eritrocitos y hemoglobina resultaron ser más bajos de lo normal. Tras realizar la necropsia y el estudio histopatológico, se observó hemosiderosis constante en el hígado, bazo y riñón y, ocasionalmente, en pulmón, interpretándose como lesiones secundarias a una anemia hemolítica (Yamato *et al.*, 1996). Otros estudios sobre los efectos de la ingestión de crudo a largo plazo en focha americana (*Fulica americana*), tras su tratamiento y rehabilitación, indican que hasta los 3.5 meses después de la ingestión no se normaliza el metabolismo del hierro ni los depósitos de hemosiderina y se mantienen niveles elevados de leucocitos, como signo de inflamación crónica reactiva (Newman *et al.*, 2000).

Según algunos autores (Leighton, 1985), la toxicidad por administración experimental de fuel oil a gaviotas argénteas (*Larus argentatus*) y frailecillos (*Fratercula arctica*) a dosis de 10 mL/kg/día, se debe a los compuestos químicos oxidantes del crudo que provocan la oxidación de los hematíes dando lugar a anemia hemolítica con reticulocitosis y formación de cuerpos de Heinz intranucleares e intracitoplasmáticos.

Los corpúsculos de Heinz son precipitados que se forman por oxidación de la hemoglobina del eritrocito por los oxidantes presentes en el fuel (Nagel and Ranney, 1973). Cuando se forman en gran cantidad dentro del hematíe, alteran su deformabilidad, convirtiéndose en células muy rígidas que no son capaces de sortear el filtro de los sinusoides esplénicos, por lo que se eliminan de la circulación en el bazo (Reinhart *et al.*, 1986).

En aves marinas petroleadas capaces de sobrevivir a la contaminación, se observó una disminución en los leucocitos, principalmente linfocitos, periféricos y de los órganos linfoides (bazo y bolsa de Fabricio), así como una desviación en la formación de leucocitos en la médula ósea hacia la formación de eritrocitos para incrementar la eritropoyesis y compensar así la anemia hemolítica (Briggs *et al.*, 1997). Esta disminución en los glóbulos blancos se sugiere como la base del efecto inmunosupresor a medio y largo plazo de la contaminación por petróleo.

En nuestro estudio, llevado a cabo en las aves marinas muertas como consecuencia del vertido del *Prestige*, no podemos conocer los efectos tóxicos sobre el sistema inmune, a medio y largo plazo, tras la rehabilitación y supervivencia de las aves, pero sí que podemos aportar datos de gran valor sobre la toxicidad aguda y subaguda de la ingestión de fuel.

Es imposible conocer la cantidad de fuel ingerida por las aves salvajes en el accidente del *Prestige*; sin embargo, en nuestro estudio (Tabla 11), consideramos que las aves con precipitados abundantes de hemosiderina (69/143, que representan el 48.3%) murieron, probablemente, por consumo repetido de dosis de fuel no demasiado altas, pero suficientes como para provocar un proceso hemolítico subagudo, que dio tiempo a que se instaurasen depósitos secundarios de hierro en el hígado, bazo y riñón, órganos encargados de la metabolización de la hemoglobina liberada de

forma masiva tras la rotura de los hematíes. En las aves con menores depósitos de hemosiderina (58/143 que representan el 40.6%), la muerte pudo ocurrir también por anemia hemolítica, pero por un cuadro más agudo, tras ingerir cantidades mayores de fuel, sin dar tiempo (4-5 días) a que se produjera la hemosiderosis secundaria masiva en los principales órganos de metabolización del pigmento de los hematíes.

3.2. Necrosis hepática y renal

En el 40.38% de las aves que presentaban fuel en el digestivo (n=104) diagnosticamos congestión hepática y necrosis multifocal de hepatocitos. Esta necrosis hepática no se acompañaba de ningún tipo de infiltrado de células inflamatorias. En los focos de necrosis, los hepatocitos mostraban diversos grados de cariólisis y citoplasmolisis, apareciendo borrosos los perfiles del núcleo y citoplasma, respectivamente (Figura 53). En estos focos, los hepatocitos necróticos comienzan a disgregarse y a desorganizar las hileras de células entre los sinusoides hepáticos (Figura 53). Desde el punto de vista histopatológico, estos focos se consideran áreas de necrosis por coagulación típica de los procesos isquémicos y/o tóxicos agudos.

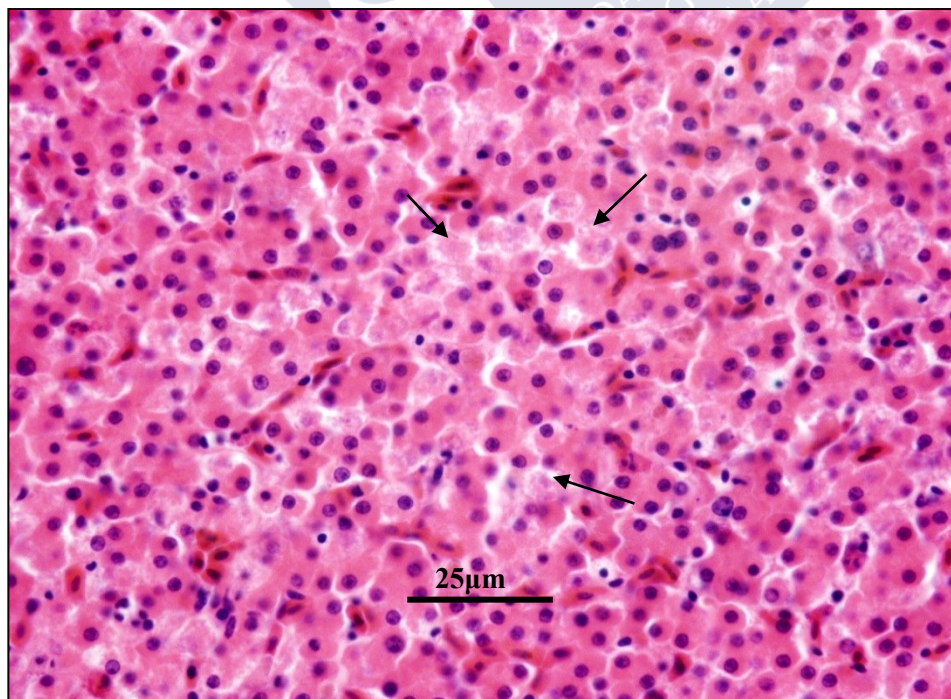


Figura 53. Necrosis hepática multifocal. Alca. Hematoxilina-Eosina. 600X. Las flechas indican múltiples focos de hepatocitos con diversos grados de cariólisis y citoplasmolisis que comienzan a disgregarse, rodeados de hepatocitos normales.

En una de las alcas con abundante fuel en el tubo digestivo, la necrosis hepática se extendía por la región subcapsular del hígado (Figura 54A); en esta zona de necrosis subcapsular se acumulaban

abundantes células de Kupffer y macrófagos cargados de hierro, positivos a la tinción de Perls (Figura 54B). Esto indica que la necrosis no era consecuencia de la autólisis *postmortem* sino *antemortem* y que posiblemente, las áreas subcapsulares del hígado sean más sensibles a la hipoxia por anemia hemolítica, sobre todo en las zonas de inserción de los ligamentos.

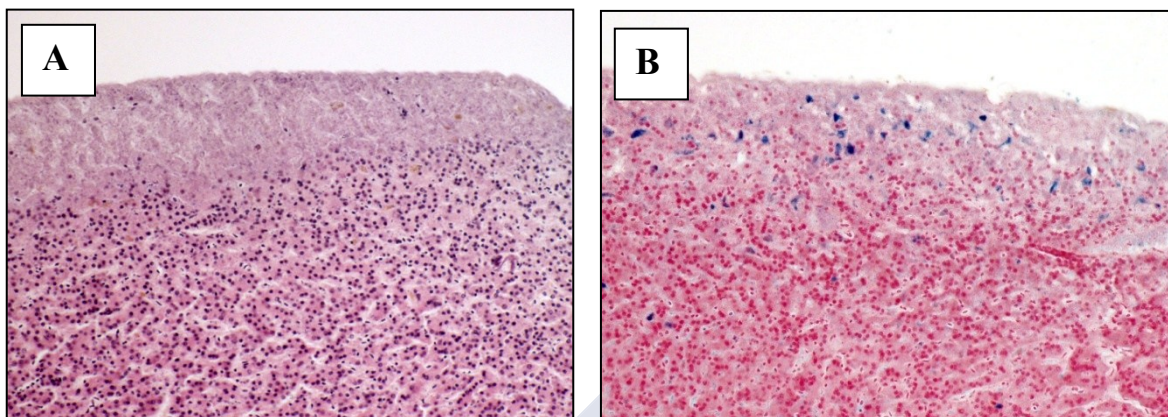


Figura 54. Necrosis hepática subcapsular en un alca. A. Hematoxilina-Eosina. 200X. B. Tinción de Perls. 200X, observar el acúmulo de células de Kupffer y macrófagos de color azul, positivos a la presencia de hierro, en el área de necrosis.

El 63.46% de las aves que presentaban fuel en el intestino (n=104) mostraron congestión renal y necrosis tubular multifocal en el riñón, que afectaba a las células epiteliales principalmente de los túbulos contorneados proximales y, en menor proporción, también de los túbulos contorneados distales y colectores, sin asociarse en ningún caso a reacción inflamatoria (Figura 55).

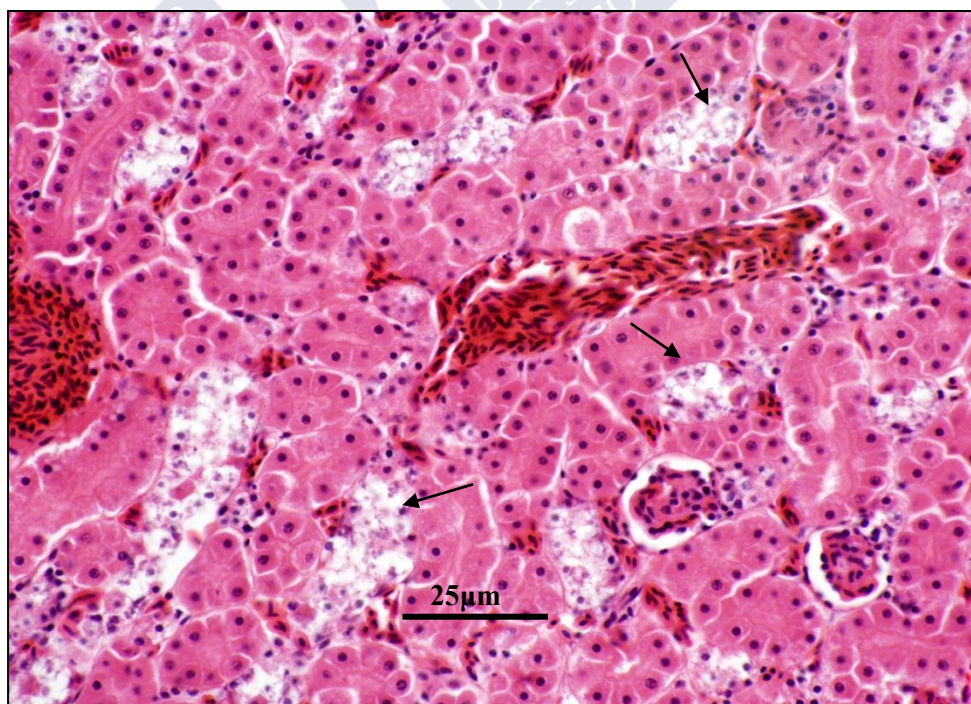


Figura 55. Necrosis tubular renal. Gaviota patiamarilla. Hematoxilina-Eosina. 600X. Las flechas indican múltiples focos de necrosis de las células epiteliales de los túbulos contorneados proximales.

Los focos de necrosis tubular presentaban a las células epiteliales mostrando diversos grados de vacuolización del citoplasma, cariólisis y descamación en la luz de los túbulos, rodeados de secciones tubulares histológicamente normales (Figura 55).

En nuestro estudio hemos encontrado una relación directa entre la necrosis renal y el grado de deposición de hemosiderina en el sistema retículo endotelial. Estos hallazgos coinciden con otros estudios realizados en patos a los que se administró fuel de forma experimental (**Fry and Lowenstine, 1985; Szaro et al., 1981**) que describen degeneración y necrosis de túbulos renales, la mayoría de las veces asociadas a inflamación intersticial.

La Tabla 12 muestra un resumen porcentual de las lesiones descritas anteriormente con relación a la presencia o ausencia de fuel en el tubo digestivo. Aunque 23 aves no presentaron fuel en el tubo digestivo, comprobamos que la mayoría de ellas (17 aves, 73%) presentaron una reacción positiva leve a la tinción de Perls en el hígado, pero no en el riñón, lo cual nos induce a pensar que los depósitos hepáticos de hierro se produjeron en episodios previos de ingestión de derivados de petróleo.

Tabla 12. Estudio de las aves petroleadas con necrosis hepática y tinción de Perls positiva en hígado y riñón.

Hallazgos histopatológicos		Aves estudiadas histopatológicamente (n=127)	
		Fuel presente en el aparato digestivo (n=104)	Fuel ausente en el aparato digestivo (n=23)
Anemia hemolítica	Hígado Perls +	101 (97.11%)	17 (73.91%)
	Riñón Perls +	30 (29.70%)	0
Necrosis hepática		42 (40.38%)	0
Necrosis tubular		66 (63.46%)	0

En cuanto al grupo mayoritario de aves con fuel presente en el tubo digestivo, parece claro que la hemólisis masiva fue determinante en la muerte de estas aves, ya que el 97.11% de ellas presentaban depósitos considerables de hemosiderina en el hígado y el 29.70% en el riñón.

La necrosis multifocal de hepatocitos observada en el 40.38% de las aves estudiadas sugiere una relación clara con la ingesta de fuel ya que esta lesión solo aparece en animales con fuel presente en el tubo digestivo, si bien, esta lesión no se observó en el 59.62% del resto de aves que presentaron fuel en digestivo, en las cuales también observamos importantes depósitos de hemosiderina en el hígado. Sugerimos que, tal vez, estas aves murieron muy rápidamente, por un proceso de anemia hemolítica aguda, sin que hubiera tiempo para el desarrollo de las lesiones hepáticas.

Así mismo, la necrosis túbular renal observada presenta una relación directa con la ingesta de fuel, ya que solo los animales con fuel en el tubo digestivo presentaron dicha lesión. Todas las aves con necrosis de túbulos renales presentaron al mismo tiempo acúmulos de hierro en el hígado, aunque, al igual que ocurría con la necrosis hepática, el 36.54% de las aves sin tubulonecrosis fueron también positivas a la tinción de Perls en el hígado, lo cual nos lleva de nuevo a considerar la muerte rápida de estas aves por la hemólisis, sin tiempo para el desarrollo de las lesiones renales.

El que casi dos tercios de las aves afectadas presentasen necrosis de túbulos renales y las devastadoras consecuencias clínicas que ello pudo desencadenar en cuanto al desequilibrio hidroelectrolítico nos hace pensar que esta lesión pudo acelerar la muerte de muchas de las aves estudiadas. De hecho, la necrosis renal afectó a un mayor porcentaje de las aves que ingirieron fuel (63.46%) en comparación con la necrosis hepática (40.38%), lo que sugiere que, además del daño renal directo como consecuencia de la ingestión de componentes nefrotóxicos en el fuel, tales como el arsénico (Feng *et al.*, 2013) o el cadmio (Binkowski *et al.*, 2013), se produjo un mayor grado de isquemia en el riñón como consecuencia de la anemia hemolítica, ya que la vascularización renal, mucho más deficiente que la hepática, hace a este órgano mucho más sensible a la hipoxia.

Cuando analizamos los cuadros histopatológicos presentados por las aves marinas a lo largo de los casi tres meses de recepción de cadáveres, observamos cómo estas alteraciones aparecían o se agravaban con el paso de las semanas (Figura 56). Así, observamos cómo durante el primer mes (diciembre, 2002) solo el 33.53% de las aves presentaron una tinción positiva para los depósitos de hierro en el hígado, signo inequívoco de hemólisis aguda y como este porcentaje aumentó durante el segundo mes (enero, 2003) al 44.18%, y continuó incrementándose hasta el 76% de las aves en el tercer mes de recepción de las aves (febrero, 2003).

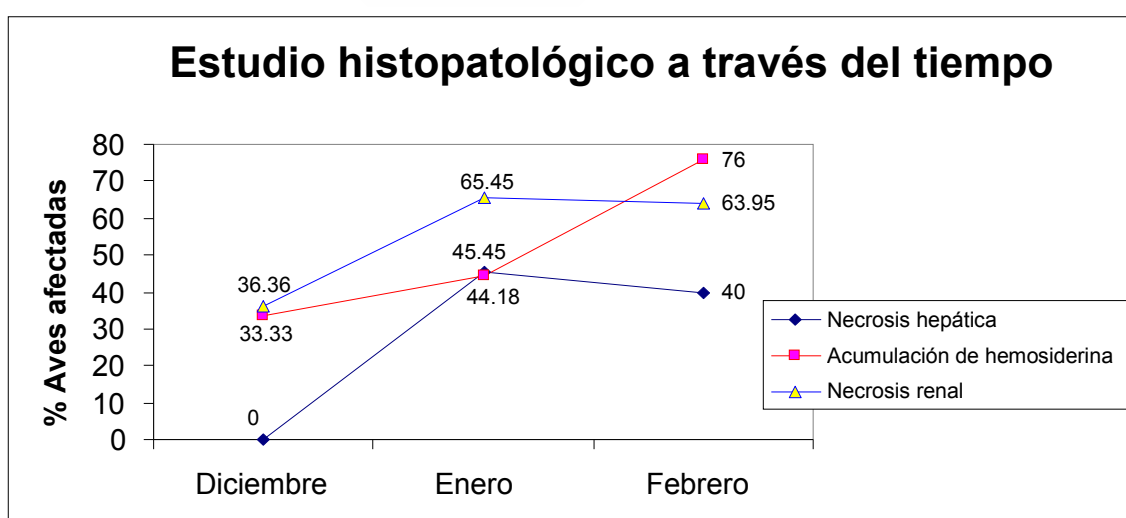


Figura 56. Gráfico de evolución de las lesiones histopatológicas observadas con respecto al tiempo.

Como existen suficientes evidencias científicas de que el fuel vertido por el petrolero *Prestige* presentaba una alta densidad y viscosidad y, lo más importante, una baja solubilidad y volatilidad que determinaba muy pocos cambios en su composición a través del tiempo (CSIC, 2003b), concluimos que el incremento de aves marinas afectadas por anemia hemolítica severa, a medida que transcurrían los meses tras el vertido en las costas, puede ser debido a una mayor probabilidad de ingestión repetida de fuel. A favor de esta teoría está la aparición de infinitas galletas de crudo sobre el mar, originadas a partir de la emulsión de las grandes manchas de petróleo por el fuerte oleaje, de pequeño tamaño, y fáciles de ingerir de forma voluntaria o accidental por las aves.

Durante el mes de diciembre, y hasta el 10 de enero, no encontramos ningún ave con necrosis de hepatocitos (hasta ese momento se habían analizado 43 animales). A partir de esa fecha, y durante el mes siguiente, casi la mitad de los animales estudiados (40-44%) presentaron lesión hepática. En el caso de la túbulonecrosis renal, las lesiones empezaron a encontrarse desde el principio (33.36% en diciembre), para incrementarse este porcentaje en enero y febrero hasta casi el 65% de las aves analizadas.

El hecho de que las lesiones renales y hepáticas se hayan observado exclusivamente en aves con fuel en el tubo digestivo, y que dichas lesiones se incrementen con el paso de las semanas tras el vertido, confirma que el hígado y riñón son los órganos diana más importantes de los efectos tóxicos tras la ingestión del fuel del *Prestige*, los cuales se vieron afectados de forma más grave en aquellas aves que tuvieron mayores probabilidades de ingerir fuel repetidamente.

3.3. Ausencia de lesiones digestivas específicas asociadas al fuel

El estudio histopatológico de las secciones de proventrículo y la molleja en las aves que ingirieron fuel mostró la ausencia de lesiones histológicas (Figura 57A y B, respectivamente). En el caso del intestino delgado (Figura 57C) y grueso (Figura 57D), además de la presencia de fuel, era evidente la desestructuración y degeneración de la mucosa intestinal, si bien estos cambios también se observaron en aves sin fuel en el digestivo, por lo cual interpretamos que se trataba de lesiones autolíticas, que se observan mucho más precozmente en el intestino que en el proventrículo o la molleja, no pudiendo relacionar dichas lesiones con la ingestión de fuel.

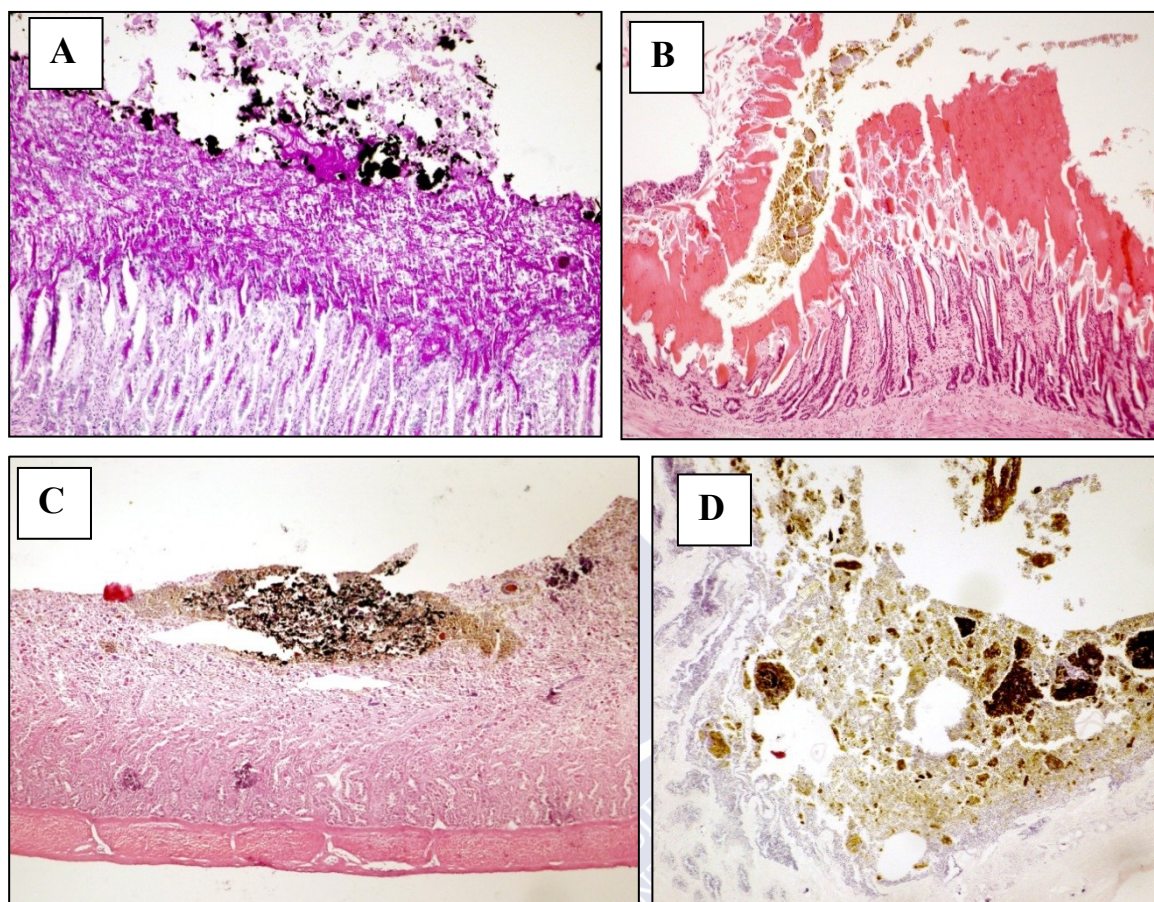


Figura 57. Ausencia de lesiones específicas en tubo digestivo por la presencia de fuel. (A) PAS-Azul Alcian. Sección de proventrículo con fuel en la superficie sobre la capa PAS+ de secreción, sin alteraciones, 100X. **(B)** H-E. Sección de molleja con fuel sobre la capa de queilina y ausencia de lesiones histológicas. 100X **(C)** H-E. Sección de intestino delgado con abundante fuel y signos de autólisis de la mucosa. 100X **(D)** H-E. Sección de intestino grueso con fuel en la superficie y signos de autólisis de la mucosa. 100X.

3.4. Lesiones asociadas a la presencia de parásitos digestivos

Como las alcas fueron la especie más parasitada por *Contraecum rudolphii*, llevamos a cabo el estudio histopatológico del esófago y proventrículo en todas las alcas con parásitos, aún cuando no presentasen lesiones macroscópicas visibles en la mucosa digestiva, para llegar a conocer en detalle las consecuencias de la parasitación.

El estudio histopatológico demostró que un 44.71% de las alcas parasitadas no presentaba lesiones relevantes asociadas a la presencia de nematodos, mientras que el 55.29% restante desarrollaron úlceras digestivas de diverso grado, provocadas por la invasión de la mucosa por las larvas juveniles.

Histológicamente, confirmamos que las alcas parasitadas sin úlceras macroscópicas en el proventrículo presentaron lesiones histológicas ausentes frente a la invasión de las larvas (Figura 58) o leves, tales como descamación del epitelio superficial de las glándulas proventriculares (Figura 59A) y hemorragias superficiales de la mucosa (Figura 59B).

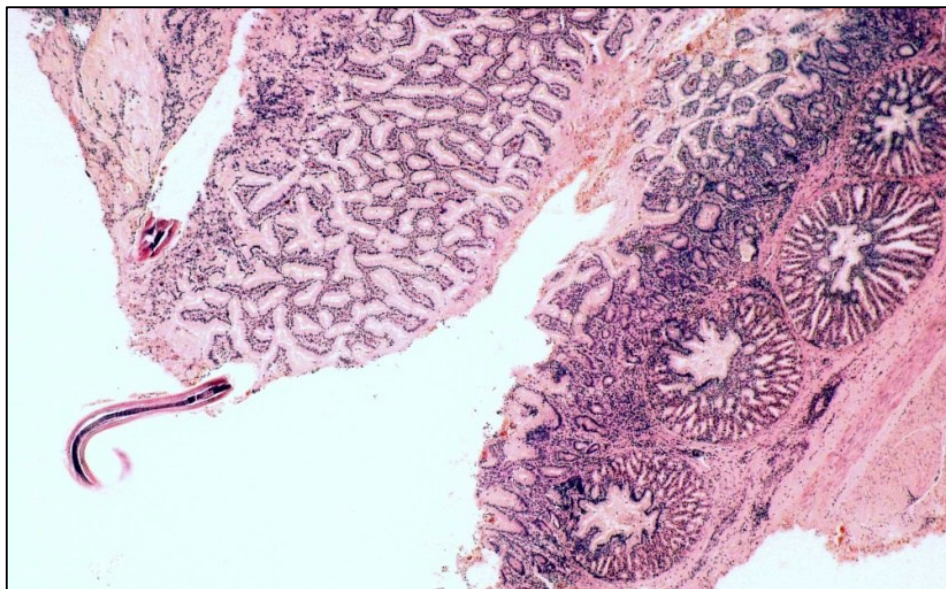


Figura 58. Larva juvenil de nematodo invadiendo la mucosa del proventrículo. Observar la ausencia de lesiones. Hematoxilina-Eosina. 100X.

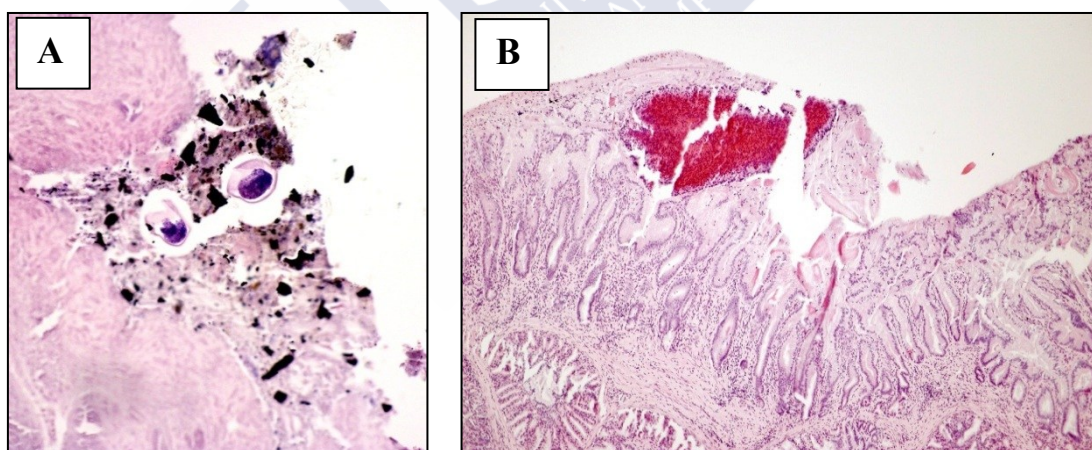


Figura 59. Lesiones leves frente a la presencia de nematodos en el proventrículo. Hematoxilina Eosina. (A) Descamación epitelial de la superficie de las glándulas proventriculares alrededor de las larvas; observar la presencia de fúel entre los restos descamados. (B) Hemorragia de la superficie mucosa.

Habitualmente, los nematodos parásitos invadían la mucosa proventricular superficial (Figura 60A) sin producir apenas lesiones, aunque en algunas aves llegaban a invadir capas más profundas del proventrículo, alcanzando incluso hasta la serosa, provocando en este caso una respuesta inflamatoria severa a su alrededor (Figura 60B).

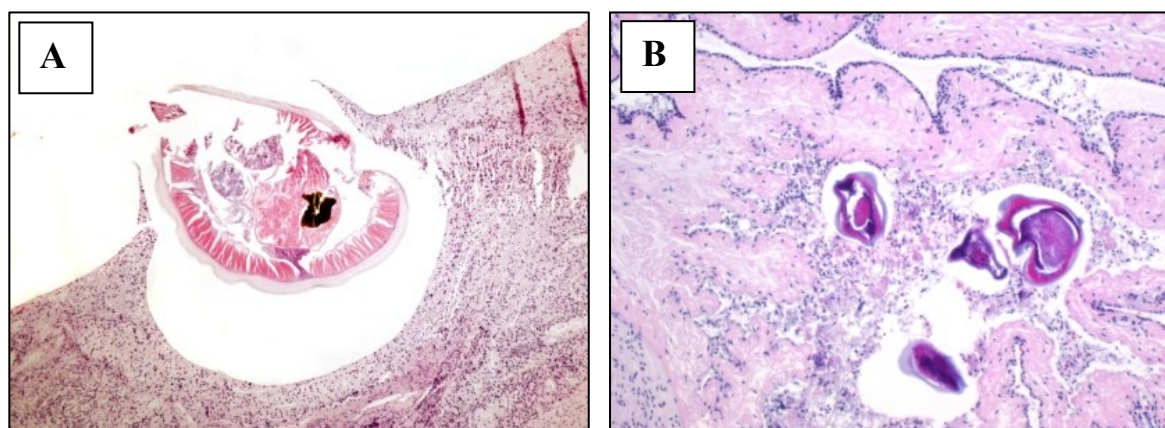


Figura 60. Invasión del proventrículo por los nematodos. (A) Hematoxilina-Eosina. 100X, sección transversal de una larva invadiendo la mucosa superficial del proventrículo; observar la presencia de heces, de color negro, en el tubo digestivo de la larva. (B) PAS- Azul Alcían. 100X, varias secciones transversales de larvas de nematodos invadiendo la serosa proventricular, rodeadas de una intensa reacción inflamatoria a su alrededor.

En secciones histológicas teñidas con la tinción de Gram, observamos la presencia de gran cantidad de bacterias asociadas a la descamación superficial de la mucosa proventricular alrededor de los adultos y larvas de nematodos (Figura 61).

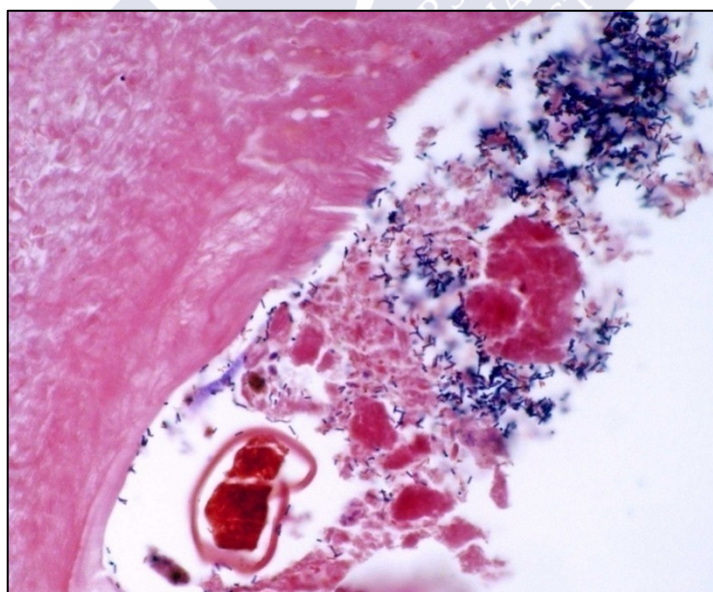


Figura 61. Bacterias asociadas a la parasitación digestiva por nematodos. Tinción de Gram. 400X. Observar el predominio de bacterias G⁺ de color violeta, y algunas bacterias G⁻ de color rosa-rojo, entre las células epiteliales descamadas alrededor de las secciones transversales de los nematodos.

En aquellas aves con úlceras macroscópicas, la mucosa del proventrículo presentaba extensas áreas superficiales de necrosis por coagulación con restos de parásitos muertos por las defensas tisulares,

rodeados por un abundante infiltrado inflamatorio (Figura 62) en el que predominaban los polimorfonucleares eosinófilos (Granuloma eosinofílico).

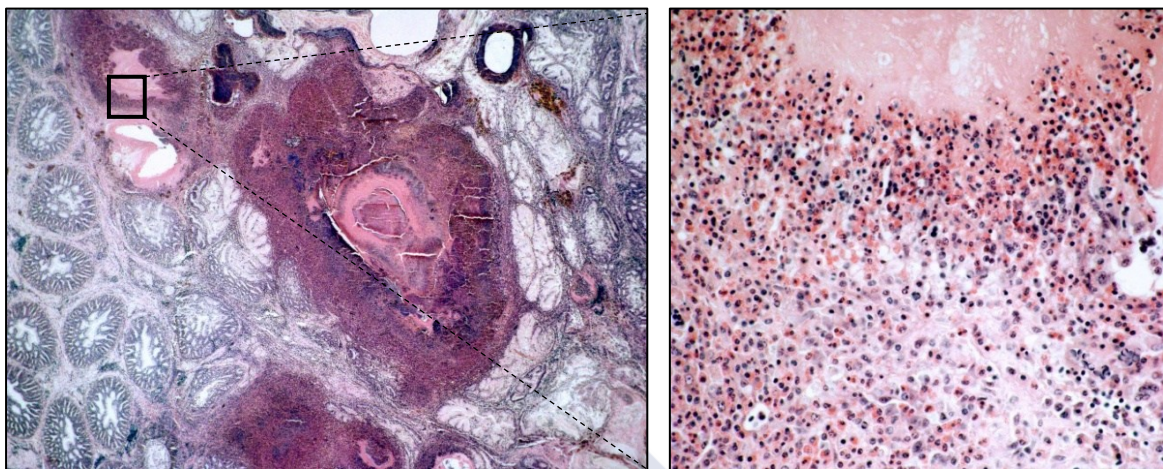


Figura 62. Aspecto microscópico de las úlceras de proventrículo. Hematoxilina-Eosina. Izquierda, imagen a pocos aumentos (20X) de la necrosis amplia en la mucosa proventricular asociada a la presencia de parásitos nematodos degenerados. Derecha, imagen a mayores aumentos (400X) del área enmarcada correspondiente al infiltrado inflamatorio con predominio de polimorfonucleares eosinófilos

Las lesiones histológicas descritas se hallaban presentes en el tubo digestivo de todas las especies de aves salvajes estudiadas parasitadas por *Contraecum rudolphi*, aunque con variaciones en el porcentaje de animales afectados y el grado de parasitación individual, tal y como se expuso anteriormente en el apartado 2.4.

Aunque las gaviotas no mostraron ningún tipo de parasitación a nivel macroscópico durante la realización de las necropsias, el estudio histológico mostró la presencia de nematodos parásitos en el proventrículo de una de las gaviotas (Figura 63). Estos parásitos, fueron identificados de forma preliminar como nemátodos *Tetrameres* sp, en concordancia con los datos descritos por diversos autores (**Gardiner and Poynton, 1999; Randall and Reece, 1996**). En una de las alcas y uno de los araos, también observamos la parasitación por *Tetrameres* sp, si bien estos se localizaron en la molleja, alojados entre la capa de queilina y las glándulas secretoras. La presencia de estos parásitos apenas provocaba reacción inflamatoria en los órganos digestivos parasitados.



Figura 63. Parasitación digestiva por *Tetrameres sp.* Hematoxilina-Eosina. Proventrículo de una gaviota mostrando una de las glándulas dilatada, alojando en su interior a un ejemplar del nematodo; observar la presencia de fuel en la sección transversal del tubo digestivo del parásito. 100X

3.5. Otras parasitaciones

Además de los nematodos digestivos descritos, también se observó la presencia de parásitos trematodos (Figura 64) en el riñón de una gaviota, un alca, un arao y un cormorán, con características morfológicas compatibles con *Renicola roscovita*.

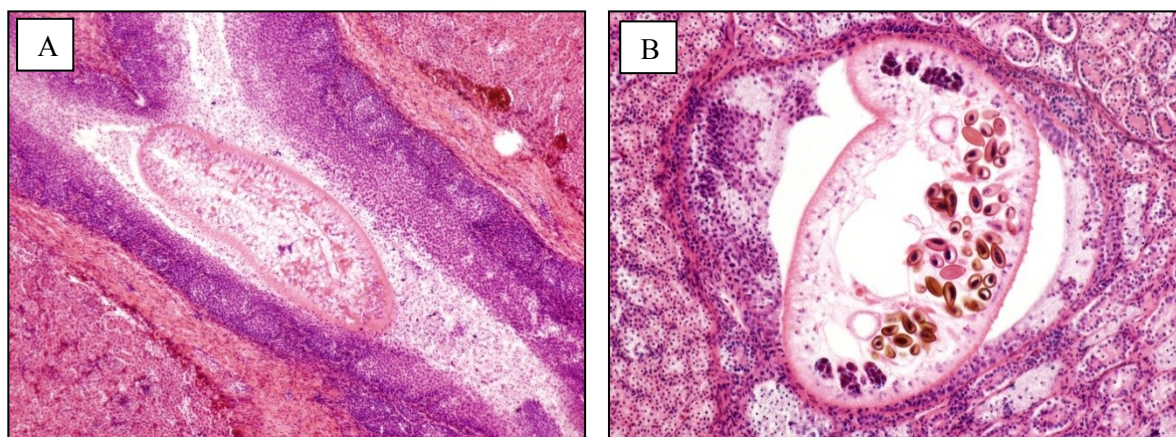


Figura 64. Trematodo marino *Renicola roscovita*. Hematoxilina-Eosina. Secciones histológicas de riñón en las que se observa la presencia en las vías urinarias del trematodo. (A) 100X, arao. (B) 200X, alca.

3.6. Otras lesiones no relacionadas con la intoxicación por fuel

En dos de las gaviotas que presentaban congestión y hemorragia pulmonar a la realización de la necropsia, diagnosticamos neumonía congestivo-hemorrágica por hongos *Aspergillus sp* (Figura 65).

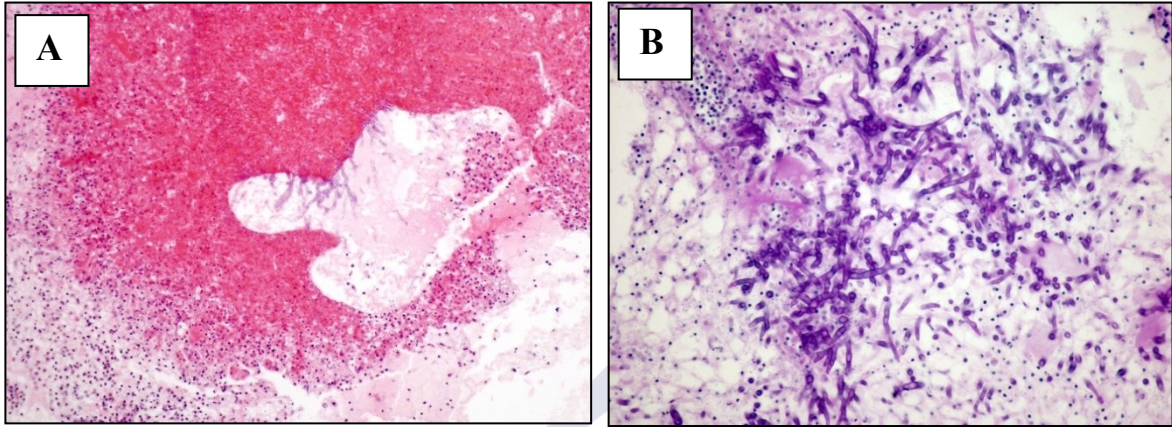


Figura 65. Neumonía congestivo-hemorrágica por *Aspergillus sp*. (A) H-E. Sección de un granuloma de pulmón con el centro hemorrágico en una gaviota, en el que se observan algunas hifas del hongo. 100X. (B) PAS-Azul Alcian. 400X. Imagen del centro de un granuloma con las hifas del hongo intensamente PAS+, de color púrpura

En 4 alcas, 3 gaviotas y 1 alcatraz, observamos degeneración hialina y desestructuración de la capa media muscular, en las arterias de mediano calibre del hígado, riñón y corazón, sin signos evidentes de inflamación, lesiones compatibles con arteriosclerosis posiblemente en ejemplares viejos (Figura 66).

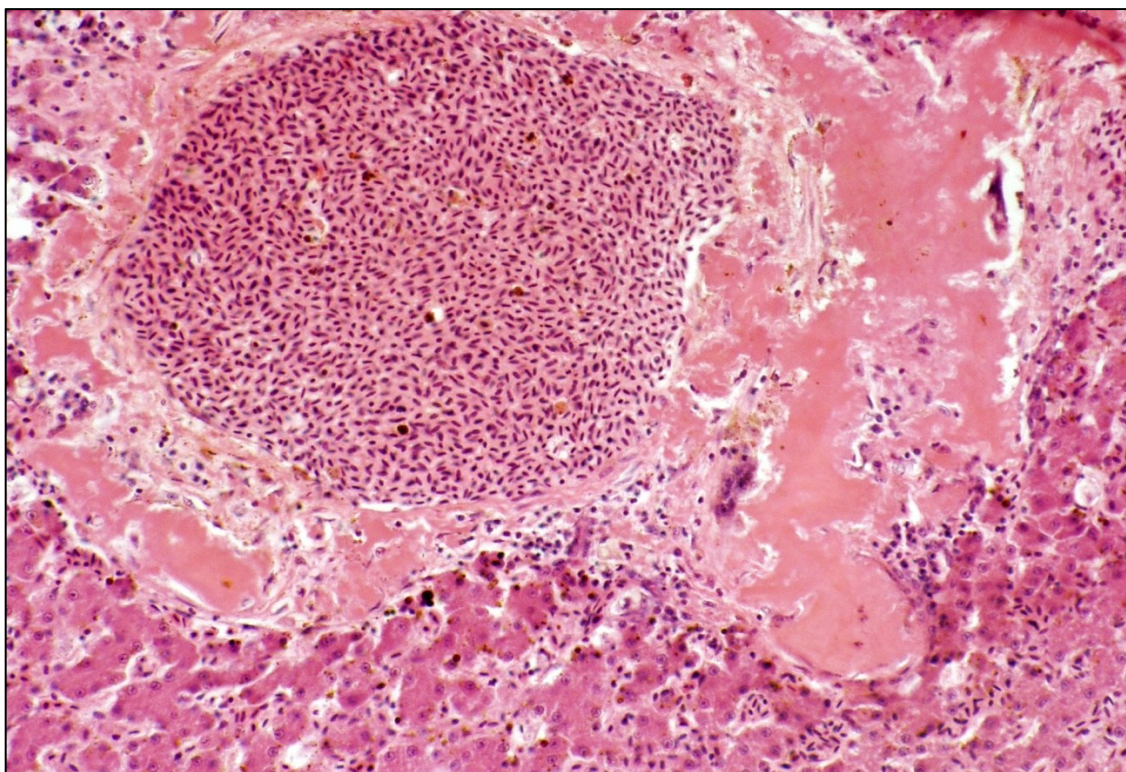


Figura 66. Arteriosclerosis. H-E. Sección histológica del hígado en una gaviota en la que se observa degeneración hialina severa de la capa media muscular y desestructuración de la pared arterial, 200X.

En una de las gaviotas también observamos esclerosis glomerular severa, con proliferación fibrosa de la cápsula de Bowman y atrofia de los glomerulos, lo que provocaría la muerte por fallo renal crónico (Figura 67).

Finalmente, también en una gaviota diagnosticamos degeneración hialina multifocal de las fibras del miocardio (Figura 68), compatible con una miocarditis vírica o con procesos degenerativos metabólicos por déficit de vitamina E y/o Selenio (enfermedad del músculo blanco).

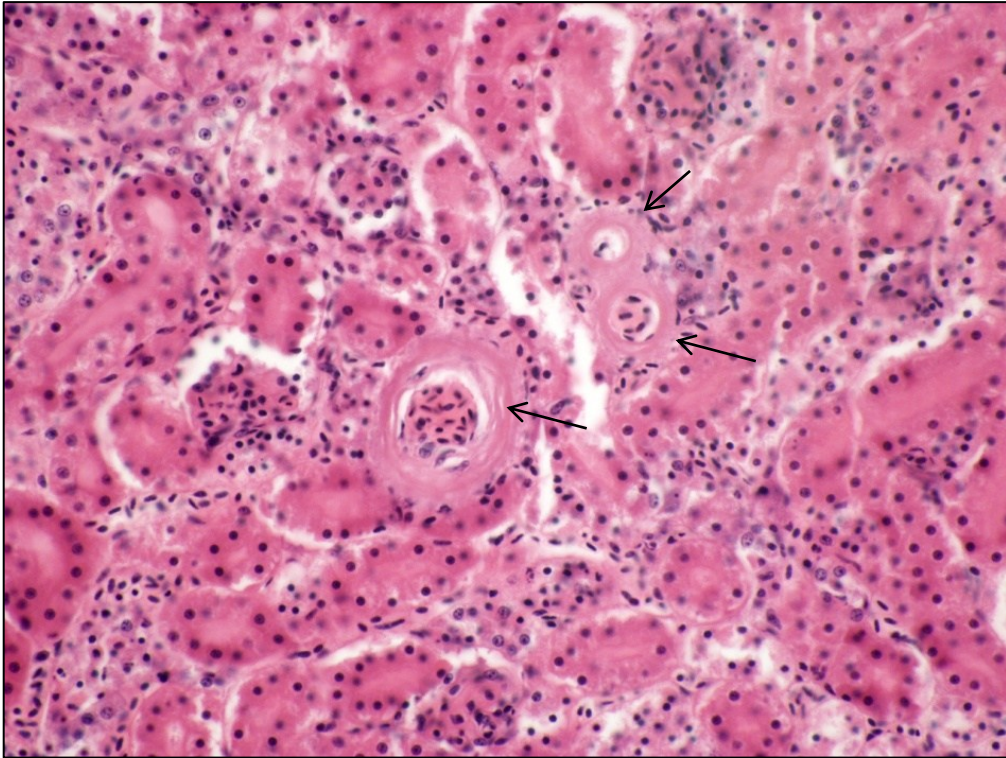


Figura 67. Esclerosis glomerular. H-E. Sección histológica del riñón en una gaviota en la que se observa engrosamiento fibroso de la cápsula de Bowman y atrofia de los glomerulos (flechas). 400X.

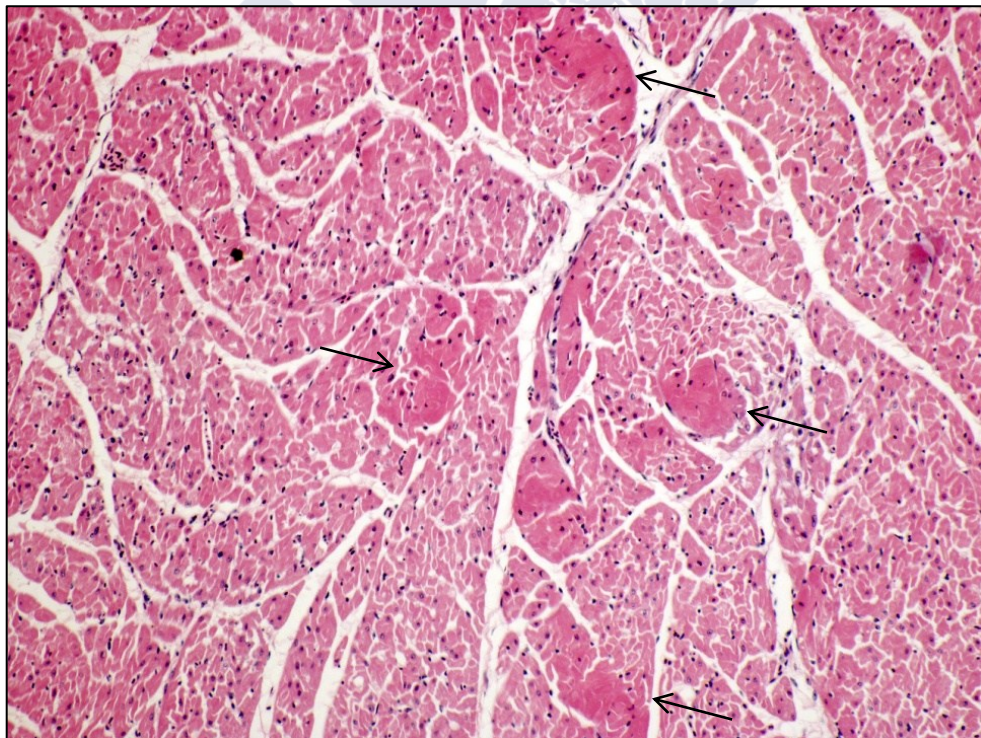


Figura 68. Enfermedad del músculo blanco. H-E. Sección histológica del corazón en una gaviota en la que se observan múltiples focos de degeneración hialina de las fibras miocárdicas (flechas). 200X.



V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Toxicología



1. ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS QUÍMICOS ESTUDIADOS EN FUEL Y EN AVES MARINAS

En la Tabla 13, se muestran las concentraciones de los elementos químicos obtenidos en el análisis del fuel proveniente del petrolero *Prestige*, destacando el hierro como el más elevado con 1659.56 ppm p.s., seguido del vanadio con 262.4 ppm p.s., por el contrario, el cadmio presentó las concentraciones más bajas (0.095 ppm) en el fuel analizado.

Tabla 13. Concentración (ppm p.s.) de elementos químicos en el fuel del *Prestige*.

As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
1.19	0.09	0.50	12.90	5.13	1659.56	44.55	0.30	1.02	0.36	262.41	1.44

La determinación de la concentración de los 12 elementos químicos en las aves marinas, se efectuó sobre muestras de hígado y riñón. En la Tabla 14, se presentan los parámetros estadísticos de los elementos químicos analizados; los rangos de valores para cada elemento son amplios, habiendo datos que son considerados como extremos u *outliers*. Asimismo, para el plomo, se obtuvieron datos por debajo del límite de detección, procediéndose a reemplazar estos valores nulos, tal como se explica en el apartado metodológico del análisis estadístico, por uno equivalente a la mitad del valor mínimo detectado para no incrementar el error estadístico tipo I, evitando un falso negativo.

Tabla 14. Parámetros estadísticos de los elementos químicos analizados en hígado y riñón de aves marinas.

Elemento químico	Órgano	N	Media (ppm p.s.)	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95% (ppm p.s.)		Mínimo (ppm p.s.)	Máximo (ppm p.s.)
						Límite inferior	Límite superior		
Arsénico	Hígado	147	42.85	48.94	4.04	34.88	50.83	0.16	275.15
	Riñón	146	26.17	34.69	2.87	20.49	31.84	0.16	332.70
Cadmio	Hígado	147	7.71	19.12	1.58	4.59	10.83	0.37	152.77
	Riñón	146	25.74	50.60	4.19	17.46	34.01	0.92	370.93
Cobalto	Hígado	147	0.35	0.60	0.05	0.25	0.45	0.02	5.86
	Riñón	146	0.42	0.52	0.04	0.33	0.51	0.01	4.60
Cobre	Hígado	147	116.17	72.56	5.98	104.34	128.00	0.12	350.68
	Riñón	146	57.65	37.22	3.08	51.56	63.74	0.08	227.39
Cromo	Hígado	147	1.50	3.02	0.25	1.01	2.00	0.02	22.57
	Riñón	146	2.21	3.14	0.26	1.70	2.72	0.01	20.89
Hierro	Hígado	147	4831.76	3681.79	303.67	4231.60	5431.91	227.74	19742.01
	Riñón	146	994.77	616.29	51.00	893.96	1095.58	208.65	4857.56
Manganeso	Hígado	147	19.43	14.44	1.19	17.08	21.79	0.38	113.33
	Riñón	146	19.29	15.07	1.25	16.82	21.75	0.53	136.62
Mercurio	Hígado	147	6.10	3.63	0.30	5.50	6.69	0.54	25.99
	Riñón	146	5.36	3.09	0.26	4.86	5.87	0.87	25.03
Plomo	Hígado	147	0.31	2.18	0.18	-0.05	0.66	0.00	26.33
	Riñón	146	0.67	2.84	0.24	0.20	1.13	0.00	25.06
Selenio	Hígado	147	29.05	19.06	1.57	25.94	32.16	2.20	85.89
	Riñón	146	49.33	34.79	2.88	43.64	55.02	4.98	184.42
Vanadio	Hígado	147	0.78	0.35	0.03	0.72	0.83	0.22	1.95
	Riñón	146	1.07	0.50	0.04	0.99	1.15	0.19	2.66
Zinc	Hígado	147	286.92	158.99	13.11	261.00	312.83	83.70	1181.33
	Riñón	146	313.98	183.69	15.20	283.93	344.02	73.61	1332.23

Debido a esta gran dispersión de los datos, se hizo necesario realizar una transformación de estos aplicando la técnica de Box-Cox, por ser robusta y estar recomendada por varios investigadores (Osborne, 2010; Zhang and Zhang, 1996) en estudios relativos a metales pesados y metaloides; así, como ejemplo en la Figura 69, para el estudio del arsénico tanto en hígado como en riñón, se presenta el histograma que tiende a una distribución normal después de la transformación.

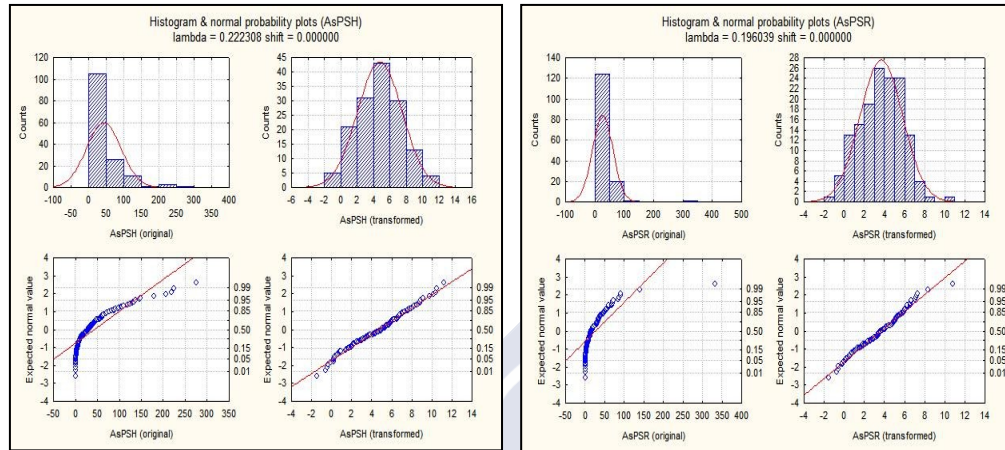


Figura 69. Transformación de datos de As en hígado y riñón de aves marinas (técnica de Box-Cox).

1.1. Relación entre las concentraciones de elementos químicos determinadas en fuel y en aves marinas

De acuerdo con las concentraciones de los 12 elementos químicos determinadas en fuel, y en las muestras de hígado y riñón de las aves marinas estudiadas (Tabla 13 y Tabla 14), cabe destacar que el fuel tenía concentraciones más elevadas de cobalto, cromo, manganeso, plomo y vanadio que los niveles promedios obtenidos en hígado y riñón. El hierro presentaba concentraciones más elevadas en hígado que en el fuel, aunque en este último eran más elevadas que las observadas en el riñón de las aves.

Una vez que todos los datos fueron normalizados con la técnica Box-Cox, se procedió a realizar la prueba *t-student* para una sola muestra, entre los niveles determinados en hígado y riñón comparados con los del fuel. Según este tratamiento, los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$) para todos los casos tal como se detalla en la Tabla 15. Con estos resultados se procedió a realizar la representación gráfica de caja y bigotes para las muestras evaluadas, como puede observarse en la Figura 70.

Tabla 15. Prueba de *t-student* de una sola muestra para la comparación de los niveles de los elementos químicos obtenidos en fuel, y en hígado y riñón, de las aves marinas afectadas por el *Prestige*.

Elemento	Hígado		Riñón	
	Prueba T	p-valor	Prueba T	p-valor
Arsénico	20.16	<0.01	19.68	<0.01
Cadmio	69.68	<0.01	90.95	<0.01
Cobalto	-11.49	<0.01	-7.680	<0.01
Cobre	20.69	<0.01	16.18	<0.01
Cromo	-19.09	<0.01	-15.17	<0.01
Hierro	11.77	<0.01	-14.91	<0.01
Manganeso	-18.35	<0.01	-18.52	<0.01
Mercurio	37.02	<0.01	43.00	<0.01
Plomo	-20.76	<0.01	-14.70	<0.01
Selenio	32.10	<0.01	40.87	<0.01
Vanadio	-137.4	<0.01	-141.8	<0.01
Zinc	111.7	<0.01	95.91	<0.01

1.2. Relación entre las concentraciones de los elementos químicos determinadas en hígado y riñón de aves marinas

Para estudiar si existía alguna diferencia estadística entre las concentraciones de los elementos químicos tratados con respecto a los órganos, se realizó un *test t-student* para muestras pareadas, debido a que ambas muestras procedían del mismo animal y estaban relacionadas, obteniéndose como resultado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) en la mayoría de los elementos a excepción del manganeso, plomo y zinc (Tabla 16). En la Figura 70 se representan las gráficas de caja y bigotes para todos los metales en hígado y riñón, observándose en qué órgano se presentaban los niveles más elevados.

El hígado, frente al riñón, contenía los niveles más elevados de los siguientes elementos: arsénico, cobre, hierro y mercurio, siendo las concentraciones más elevadas en riñón para cadmio, cobalto, cromo, selenio y vanadio.

Tabla 16. Comparación de las concentraciones de elementos químicos en hígado y riñón de un mismo individuo, mediante la prueba de *t-student* para muestras relacionadas.

Comparación por parejas		Media	Des. típ.	Error típ. media	Intervalo de confianza 95%		t	gl	Sig.
					Inferior	Superior			
Par 1	As hígado vs. As riñón	16.17	29.75	2.47	11.29	21.06	6.55	144	<0.01
Par 2	Cd hígado vs. Cd riñón	-18.20	37.44	3.11	-24.35	-12.05	-5.85	144	<0.01
Par 3	Co hígado vs. Co riñón	-0.11	0.64	0.05	-0.21	0.00	-2.02	144	<0.04
Par 4	Cu hígado vs. Cu riñón	57.67	68.51	5.69	46.43	68.92	10.14	144	<0.01
Par 5	Cr hígado vs. Cr riñón	-0.71	2.75	0.23	-1.16	-0.26	-3.11	144	<0.01
Par 6	Fe hígado vs. Fe riñón	3865.15	3523.94	292.65	3286.71	4443.59	13.21	144	<0.01
Par 7	Mn hígado vs. Mn riñón	-0.21	11.03	0.92	-2.02	1.61	-0.22	144	0.82
Par 8	Hg hígado vs. Hg riñón	0.73	2.48	0.21	0.32	1.14	3.54	144	<0.01
Par 9	Pb hígado vs. Pb riñón	-0.36	3.49	0.29	-0.94	0.21	-1.25	144	0.21
Par 10	Se hígado vs. Se riñón	-20.75	24.16	2.01	-24.71	-16.78	-10.34	144	<0.01
Par 11	V hígado vs. V riñón	-0.30	0.47	0.04	-0.38	-0.23	-7.76	144	<0.01
Par 12	Zn hígado vs. Zn riñón	-28.03	226.68	18.82	-65.24	9.18	-1.49	144	0.14

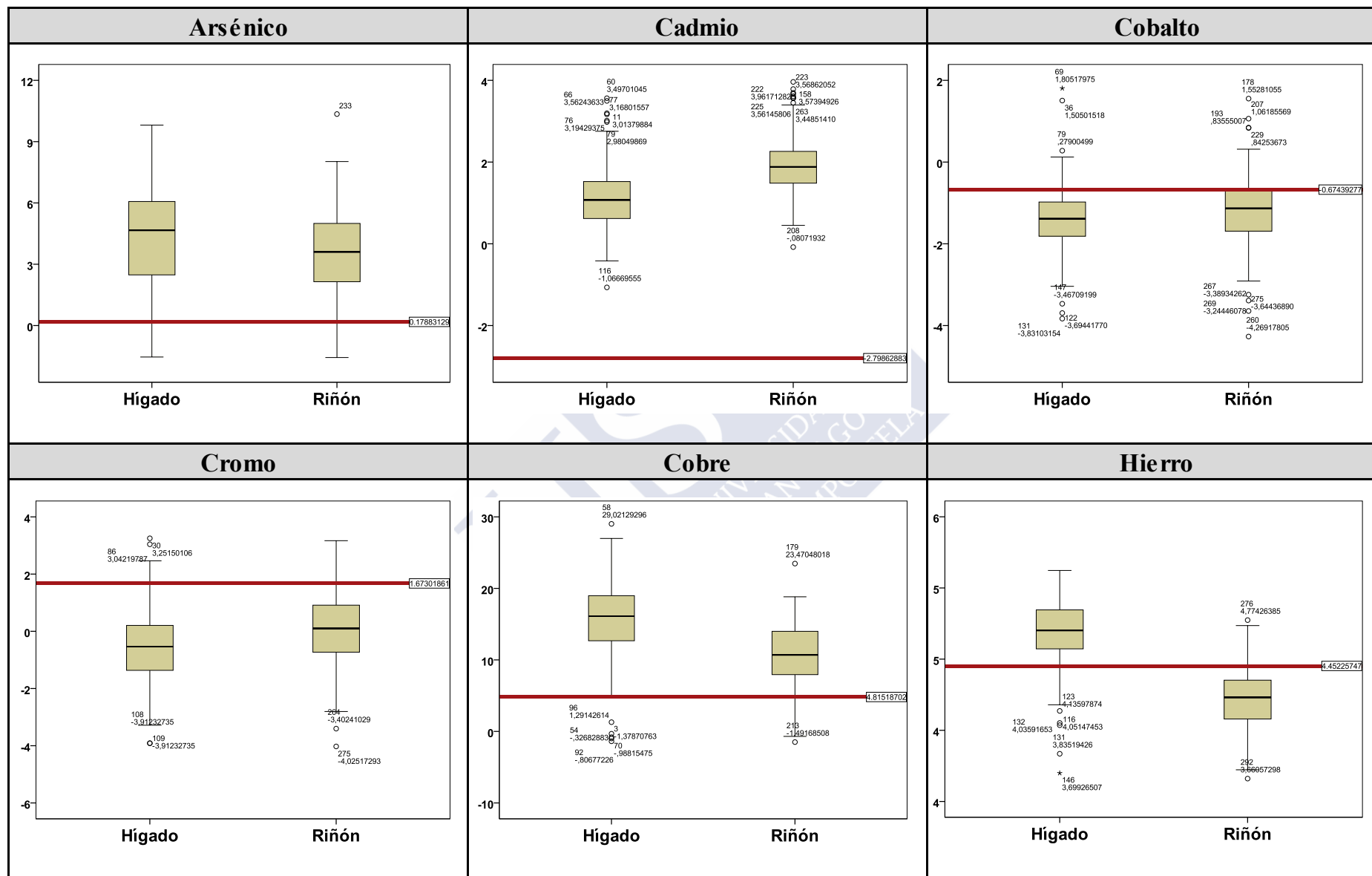


Figura 70. Representación gráfica de caja y bigotes de las concentraciones de los elementos químicos en hígado y riñón de las aves respecto a la concentración en fuel (línea horizontal).

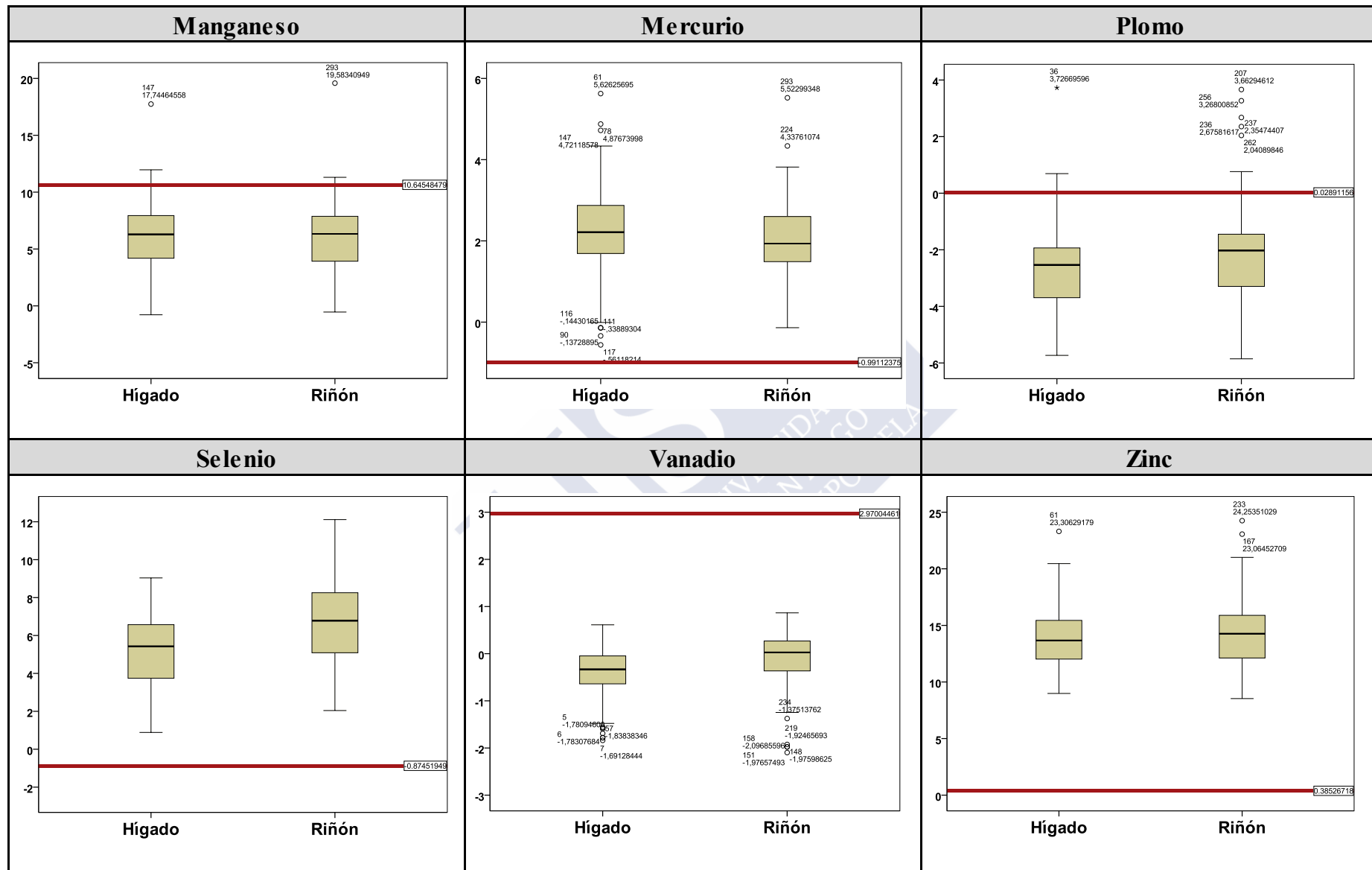


Figura 70 (cont.). Representación gráfica de caja y bigotes de las concentraciones de los elementos químicos en hígado y riñón de las aves respecto a la concentración en fuel (línea horizontal).

2. ELEMENTOS QUÍMICOS EVALUADOS

Los elementos químicos estudiados se pueden agrupar en dos categorías, la primera compuesta por los micronutrientes que cumplen una clara función fisiológica en las aves tales como el cobalto, cobre, hierro, manganeso, selenio y zinc. Un segundo grupo formado por aquellos que son tóxicos a dosis muy pequeñas para las aves: arsénico, cadmio, cromo, mercurio, plomo y vanadio.

2.1. Micronutrientes

2.1.1. Cobalto

El cobalto es un elemento esencial en animales, estando implicado en la síntesis de la vitamina B₁₂ (Okamoto and Eltis, 2011), según la *National Research Council – Canadá* (NRC), en aves de producción avícola, no tiene niveles mínimos en cuanto a sus requerimientos en la dieta, mientras que el nivel máximo es de 10 ppm (NRC, 1994).

En animales de experimentación, la DL₅₀ del cobalto es 6170 ppm *per os* (FDRL, 1984). Experimentalmente en conejos expuestos al cobalto, se observó que este tiende a acumularse en hígado, riñón, páncreas y corazón, al mismo tiempo que los macrófagos alveolares presentaron un incremento de tamaño (Johansson *et al.*, 1986). El mecanismo de toxicidad celular del Co consiste en la inhibición de la respiración celular y de las enzimas del ciclo del ácido cítrico (Pourkhabbaz *et al.*, 2011; Simonsen *et al.*, 2012).

En el presente estudio, se determinaron en el fuel concentraciones de cobalto de 0.50 ppm p.s., nivel superior al obtenido tanto en hígado como en riñón de las aves (0.35 y 0.42 ppm de promedio, respectivamente). Estas concentraciones respecto a las encontradas en otras publicaciones (Tabla 55) fueron más elevadas; además, diversos estudios mostraron que la concentración de este elemento en tejidos de aves no excedió de 0.25 ppm p.s. (Eisler, 2010).

2.1.2. Cobre

En estudios que analizaron los sedimentos de las islas de Galicia afectadas por el petrolero *Prestige*, se mostraron niveles altos de cobre (Andrade *et al.*, 2004; Santos-Echeandía *et al.*, 2008). Sin embargo, estos niveles fueron más bajos que los obtenidos en la bahía de Algeciras (Andalucía-España) que tiene una contaminación crónica (Morales-Caselles *et al.*, 2007). No obstante, según el presente estudio, el fuel del buque no contenía niveles elevados de cobre (12.51 ppm p.s.), por lo que se atribuye que, la alta presencia de este elemento en las costas gallegas puede ser de origen geológico.

En la evaluación de plumas de gaviotas recogidas en zonas afectadas por el *Prestige*, se observó que los niveles de cobre y plomo en los polluelos aumentaron entre 3 y 5 veces después de 3 años

del accidente. Posteriormente, volvieron a niveles previos al accidente, aunque estas concentraciones siguieron siendo elevadas en comparación con los datos de otras publicaciones (**Moreno et al., 2011**).

Según la NRC los requerimientos mínimos de Cu son de 8 ppm y los máximos de 300 ppm en dietas de aves de producción (**NRC, 1994**); las aves marinas, en general, retienen una pequeña parte del cobre que ingieren con la dieta puesto que es un oligoelemento necesario para su fisiología. La mayoría de casos de intoxicación recogidos en la literatura han sido consecuencia de una ingestión de desperdicios, determinándose incluso niveles de 4970 ppm p.s., observándose, además la influencia de la edad ya que mostraron mayores niveles los ejemplares juveniles que los adultos (**Eisler, 1998, 2010**); sin embargo, en estudios de araos de Escocia, no se observaron estas diferencias entre animales jóvenes y adultos (**Stewart et al., 1994**).

En investigaciones realizadas en araos (*Uria aalge*), se demostró que las aves producían metalotioneínas en respuesta a situaciones de estrés (**Debacker et al., 2001b**) y también, como efecto citoprotector contra el exceso de cobre en forma de iones libres (**Bouquegneau et al., 2001**); por ello, pudo comprobarse que las metalotioneínas se encontraban en mayor cantidad en aves más contaminadas (**Bouquegneau et al., 1996**).

Según los datos analíticos toxicológicos obtenidos en el presente estudio, el fuel contiene niveles inferiores de cobre (12.90 ppm) que los observados en el hígado de las aves marinas (166.17 ppm) y en el riñón (57.56 ppm). En la Tabla 56 (anexos) se muestran los niveles de cobre en otros trabajos publicados.

2.1.3. Hierro

El hierro es un elemento esencial para el funcionamiento fisiológico del organismo teniendo una función vital en el crecimiento siendo necesario para la oxigenación tisular y para mantener el metabolismo celular, hallándose la principal fracción de este en el eritrocito (**Jarup, 2003**). Según la NRC los requerimientos mínimos son de 80 ppm y los máximos de 1000 ppm (**NRC, 1994**).

Los niveles más elevados de hierro se encuentran en hígado, seguido de riñón, músculo y huevo (**Eisler, 2010**), coincidiendo con el presente estudio. La especie que tiene mayor concentración de hierro es el arao, sin embargo, existen muy pocos estudios realizados en aves acerca de este metal (Tabla 58 de anexos). El petróleo analizado tenía valores de hierro (1659.56 ppm p.s.) más elevados significativamente que los obtenidos en riñón; sin embargo, en hígado los niveles encontrados en las aves fueron superiores a los del fuel.

2.1.4. Manganeseo

Los niveles medios de manganeso en las aves marinas fueron 19.43 ppm en hígado y 19.29 ppm en riñón. Comparando los resultados de las concentraciones obtenidas en otros estudios relacionados con este metal (Tabla 59 de anexos), los valores aquí descritos superan dos veces los obtenidos en estudios realizados en Portugal y cuatro veces más los mostrados en las aves pardelas de cabeza negra (*Puffinus gravis*) de Brasil (Barbieri *et al.*, 2007; Mendes *et al.*, 2008). También, cabe destacar que los niveles de manganeso en fuel fueron (44.55 ppm) dos veces superiores a los encontrados en las aves del presente estudio.

2.1.5. Selenio

Este elemento esencial está relacionado con la vitamina E y también con procesos de detoxificación provocados por mercurio (Kim *et al.*, 1996b). Sus requerimientos para aves de producción oscilan entre 0.15 y 2 ppm en dieta (NRC, 1994). Los problemas crónicos asociados al selenio se manifiestan con baja condición corporal o emaciación, necrosis hepática e hipertrofia renal (más del 40% del tamaño normal); estos efectos nocivos han sido observados en animales con más de 66 ppm p.s. de selenio en hígado (Albers *et al.*, 1996).

La DL₅₀ de selenio en ratas es 6.7 ppm (Cummins and Kimura, 1971), mientras que la dosis letal del trióxido de selenio en ratones es 7.08 ppm (Pletnikova, 1970).

En las aves del presente estudio, el nivel promedio de selenio en las muestras de hígado fue de 29.05 ppm, mientras que en riñón el promedio se estableció en 49.33 ppm, siendo mucho más elevados para ambos órganos que los determinados para el fuel (0.36 ppm). Estos niveles obtenidos en aves son superiores a los mostrados en otros estudios realizados en aves acuáticas de España (Taggart *et al.*, 2009), pero inferiores a los niveles obtenidos en aves marinas de la Isla Reunión (Kojadinovic *et al.*, 2007b; Kojadinovic *et al.*, 2007c) (Tabla 62 de anexos).

2.1.6. Zinc

Según la NRC, en aves de producción, los requerimientos mínimos son de 40 ppm y los máximos de 1000 ppm (NRC, 1994). Por otra parte, según estudios realizados en 1980, los ecosistemas marinos de Estados Unidos reciben al menos 21 000 toneladas de zinc al año, siendo el 21% proveniente de fuentes atmosféricas (Eisler, 2010).

En aves, el zinc forma parte del tegumento, es decir, uñas, pico, plumas y escamas, siendo un elemento esencial en la nutrición de las aves. Sin embargo, en general, también puede llegar a ser tóxico, estando descritos niveles de tolerancia de ingestión en cerdos de 1000 ppm y en humanos de 100 ppm al día. Niveles elevados de este elemento conducen a una disminución de la

disponibilidad de cobre pudiendo provocar daños cardíacos y arterioesclerosis (Navarro *et al.*, 2010).

En una revisión bibliográfica sobre la presencia de zinc en varias especies de aves acuáticas de Nueva Zelanda, se describieron como niveles normales 87.6 ppm peso húmedo en hígado (Turner *et al.*, 1978); sin embargo, en otros estudios se detectaron concentraciones de 885 ppm p.s. en hígado de garzas de Rhode Island en Estados Unidos (Custer and Mulhern, 1983). También se describe que en aves la concentración tóxica de zinc encontrado en sangre es de 2 ppm (Harrison *et al.*, 1994).

Este metal puede desempeñar un papel de antioxidante en casos de intoxicación por otras sustancias como los PCBs, existiendo una correlación positiva entre los niveles de zinc y los niveles de cadmio. El zinc compete selectivamente por las reservas proteicas de alto y bajo peso molecular (estas últimas metalotioneínas) y, una vez que estas proteínas están saturadas, el exceso de metal se une a otras proteínas que ligan metales, ocasionando problemas en aves marinas que se manifiestan por pérdida de peso, diarreas, ataxia, depresión llegando inclusive a la muerte del animal (Eisler, 2010; Harrison *et al.*, 1994).

El zinc interfiere con el metabolismo del hierro y cobre, e inhibe la producción y función normal de los glóbulos rojos y, en algunos casos, provoca la destrucción de estos causando anemia hemolítica (Wade, 2008). En general, se establece que aves intoxicadas por zinc, presentan niveles próximos a 2100 ppm p.s. en hígado y riñón (Eisler, 2010).

En el presente estudio, en hígado y riñón se observaron concentraciones de 286.92 y 313.98 ppm p.s., respectivamente, siendo estos niveles superiores a los descritos en otros estudios (Tabla 64 de anexos) y también a los hallados en el fuel del *Prestige* (1.44 ppm).

2.2. Elementos tóxicos

2.2.1. Arsénico

La concentración de arsénico de la muestra de petróleo proveniente del *Prestige* fue de 1.19 ppm p.s., muy inferior al nivel promedio obtenido en las muestras de hígado (42.85 ppm p.s.) y riñón (26.17 ppm p.s.) de las aves marinas. Estos datos fueron corroborados en un estudio (Peña-Vázquez *et al.*, 2006) realizado en la Ría de Arousa (afectada por la marea negra del *Prestige*), donde se mostró que los niveles para este elemento antes y después del accidente estuvieron dentro de la normalidad en medio acuático (<1.5 µg/L).

Existen diversos estudios que muestran la tolerancia o la dosis letal del arsénico en aves marinas; según algunos investigadores, el nivel tóxico mortal es de 50 ppm (Neff, 1997), sin embargo, en un

estudio realizado en un águila pescadora (*Pandion aliaetus*) que presentaba niveles de 16.5 ppm p.s., ya se ponían de manifiesto problemas graves de salud (**Wiemeyer et al., 1980**). Otros autores exponen que la DL₅₀ en patos (*Anas platyrhynchos*) es 323 ppm de peso corporal (**Eisler, 2010**).

En condiciones experimentales, los patos acumulan en hígado el 10% del arsénico ingerido, lo que conlleva un aumento de los niveles de glutatión hepático y de la concentración de ATP, lo que se relaciona con una disminución del peso corporal y de la tasa de crecimiento; estas alteraciones serían menores si existiera un consumo mayor de proteínas, que produciría una disminución significativa de los niveles de arsénico a corto plazo (**Eisler, 2010**).

Los niveles de arsénico en hígado de mamíferos marinos son muy variables dependiendo del tipo de alimentación, así, aquellos que se alimentan de cefalópodos y crustáceos presentan mayores niveles que los que se alimentan de peces (**Kubota et al., 2001**). Las aves marinas, con respecto a las aves terrestres, contienen mayores niveles de arsénico, alcanzándose hasta 42 ppm p.s. en hígado en un albatros de pata negra (*Phoebastria nigripes*); asimismo, los niveles determinados en los huevos de estos fueron inferiores a los encontrados en las madres (**Kunito et al., 2008**). Según otro estudio realizado en albatros de pata negra, se obtuvieron niveles de arsénico total en hígado de 16 ± 11 ppm p.s. (**Fujihara et al., 2004**).

En estudios realizados en pinnípedos, aves y tortugas marinas, se observó que la arsenobetaina fue la forma más relevante de arsénico encontrado en hígado (**Fujihara et al., 2003**).

Las concentraciones de arsénico determinadas en el presente estudio, muestran un promedio de 26.17 ppm en riñón y 42.85 ppm en hígado, siendo este último un valor muy próximo al nivel conocido por su toxicidad letal (50 ppm). Por otra parte, estos niveles son más elevados que los obtenidos por Pérez-López et al. (2006) en el estudio que realizaron sobre el hundimiento del *Prestige* y por Savinov et al. (2003) en el mar de Barents (Noruega) (Tabla 53 de anexos).

2.2.2. Plomo

En muchos países la causa principal de muerte de aves es la utilización de perdigones de plomo en actividades cinegéticas. Según la Agencia de Pesca y Medio Silvestre de Estados Unidos se estimaba que sólo en ese país en el año 1987 eran arrojadas a los medios acuáticos 3 000 toneladas de plomo. En la actualidad se hacen esfuerzos por reemplazar los perdigones de plomo por los de acero (**Guitart et al., 2010; INAC, 2010; Jarup, 2003**).

El plomo y zinc, son los metales pesados más comunes que provocan toxicosis en aves aunque ambos actúan por mecanismos distintos; así, el plomo tiende a acumularse dentro del cuerpo, mientras que el zinc se acumula como parte de los tegumentos (plumas) (**Brisbane, 2007**). Los niveles de plomo de más de 1.5 ppm peso húmedo en hígado o más de 3 ppm peso fresco en riñón,

han demostrado provocar intoxicaciones y cursar con sintomatología clínica (Eisler, 2010; Guitart *et al.*, 2010). En estudios llevados a cabo en las rías gallegas del año 2000 (previo al accidente del *Prestige*) se evaluaron zonas con altos contenidos de plomo y zinc, sobre todo en zonas cercanas a ciudades pequeñas (Prego and Cobelo-García, 2003). Además, estudios temporales realizados en estas rías, muestran que la reducción del uso de gasolinas sin plomo ha dado lugar a una disminución de los niveles de este metal pesado en el agua de dichas rías (Cobelo-García and Prego, 2003).

Según el segundo informe del CSIC con respecto al desastre del *Prestige*, el agua marina analizada tras el vertido tuvo un incremento de los niveles de plomo, cobre y sobre todo zinc (CSIC, 2003b); además, las muestras de fuel emulsionado recogidas en la costa contenían una proporción de agua de entre el 54 y el 59%, calculado en base al contenido en azufre.

El examen clínico de un ejemplar que muestre debilidad, incoordinación motora, diarrea verde y caquexia, sirve en parte como diagnóstico diferencial de una *plumbosis* (denominada también saturnismo) (Suárez and Urios, 1999; Taggart *et al.*, 2009).

En los últimos años se han hecho esfuerzos para regular el uso de la contaminación por plomo, estando descrita la contaminación de este elemento permitido para el uso industrial (Kasowski and Kasowski, 1976), sin embargo, pese a todos los esfuerzos, persiste como un problema de contaminación actual (Stephens, 2013). Este uso industrial incluye las pinturas utilizadas en puentes o barcos por su característica anticorrosiva, de esta forma el plomo puede llegar a la cadena trófica de los organismos marinos tales como las aves.

En patos de la especie ánsar careto (*Anser albifrons*), con concentraciones de plomo en hígado de 6.9 a 67.7 ppm peso húmedo, se observó a nivel macroscópico el hígado manchado y la impactación del proventrículo, mientras que a nivel histológico se observó hemosiderosis en las células de Kuppfer, dilatación de los canalículos biliares y pigmentación biliar de hepatocitos; sin embargo la severidad de las lesiones no estaba correlacionada con la concentración de plomo (Ochiai *et al.*, 1993). Lesiones similares se hallaron en cisnes cantores (*Cygnus cygnus*) de Japón, con niveles de 5.5 a 44.3 ppm peso húmedo en hígado (Ochiai *et al.*, 1992).

En patos (*Anas platyrhynchos*) a los cuales se administró experimentalmente perdigones de tungsteno, plomo, acero y hierro se observó que en el grupo que ingirió perdigones de plomo, hubo una mortalidad del 50% de las aves en un período de 30 días; en la necropsia mostraron nefrosis y estasis biliar, y también disminuyó el nivel de hematocrito y hemoglobina en el día 15 después de la exposición (Kelly *et al.*, 1998).

En el presente estudio, los niveles de plomo hallados en las muestras de fuel (1.02 ppm) fueron significativamente superiores a los encontrados en hígado (0.31 ppm p.s) y riñón (0.67 ppm p.s.) de

las aves marinas, así mismo en la Tabla 61 de la sección de anexos se observan los niveles obtenidos en otras publicaciones.

2.2.3. Cadmio

El cadmio es un elemento considerado como muy tóxico al que están expuestos el medio ambiente y muchas poblaciones, requiriendo acciones para evitar que siga aumentando la contaminación (Korte, 1982). No se trata de un elemento esencial en aves, y la variabilidad de niveles determinados en animales, indica que, en general, aún faltan muchos estudios para evaluar el verdadero impacto del cadmio (Burger, 2008). El análisis del petróleo mostró que contenía niveles del orden de 0.10 ppm de cadmio, considerado muy bajo comparado con los observados en las aves marinas de este estudio (hígado: 7.71 ppm p.s. y riñón: 25.74 ppm p.s.).

En araos muestreados en las costas de Bélgica, se observó que los niveles de cadmio fueron más elevados en adultos que en animales jóvenes, lo que hace suponer que existe una bioacumulación (Debacker *et al.*, 2001b), sin embargo, otros estudios realizados en aves marinas, no mostraron diferencias entre las edades, siendo más importantes, como factores influyentes, la dieta de las aves (Stewart and Furness, 1998) o el hábitat (Hutton, 1981).

En un estudio realizado con halobates (arañas de agua), se mostraron niveles más elevados de cadmio que los que se obtuvieron en las aves marinas, pudiendo ser considerados como una fuente de aporte de cadmio (Bull *et al.*, 1977). También destacaron que en algunas zonas, los altos niveles de cadmio tienen un origen geológico y no industrial. Sin embargo, actualmente, se está comprobando que el aumento progresivo de los niveles de cadmio en el medio ambiente y especialmente en algunos organismos como las aves, es debido a las diversas actividades antropogénicas e industriales existentes (Eisler, 2010), y concretamente, los niveles de cadmio en aves marinas fueron más elevados en áreas afectadas por derrames de petróleo, (Burger, 2007; Burger *et al.*, 2007a).

También se ha demostrado que puede haber una influencia en los niveles de cadmio según la época del año, ya que aumentan tanto en hígado como en riñón durante la primavera (abril-junio). Esta temporalidad podría estar relacionada con el cambio de la dieta de la aves o incluso con el proceso de muda (Stewart *et al.*, 1994).

En aves marinas, se observó que las concentraciones más altas de cadmio se presentaban en el riñón, seguido del hígado, músculo, cerebro y/o huevo (Kim *et al.*, 1996a), demostrando que tanto el hígado como el riñón son órganos críticos en su acumulación, debido a su unión con las metalotioneínas de estos órganos, y a su baja capacidad de eliminación del complejo Cd-metalotioneína (Alonso *et al.*, 2000).

Aunque el cadmio afectó a la reproducción de las aves (**Thompson and Bannigan, 2008**), sin embargo no se transfirió a sus huevos en cantidades importantes (**Burger, 2002**). Se observó asimismo, que las plumas de los polluelos tenían niveles más elevados de cadmio que los huevos, probablemente debido a la existencia de una contaminación ambiental externa (**Burger and Gochfeld, 1993, 2000b**).

En paíños boreales (*Oceanodroma leucorhoa*) del norte occidental de Canadá, se observaron niveles de cadmio en riñón de 306 ± 78 ppm p.s. (**Elliott and Scheuhammer, 1992**), estos niveles estuvieron correlacionados con una elevada cantidad de metalotioneínas en riñón, situación que se explica por el conocido mecanismo de las metalotioneínas de su unión al cadmio para proteger al organismo de efectos tóxicos (**Brown and Chatel, 1978**).

Las aves marinas, al igual que otros vertebrados, tienen unas proteínas similares a las metalotioneínas en hígado y riñón, sirviendo como protectoras frente a algunos elementos inorgánicos tóxicos, a pesar de lo cual, los efectos del cadmio son muy nocivos para el riñón como se demuestra en estudios histológicos (**Osborn and Nicholson, 1984**).

En las aves marinas afectadas por el *Prestige*, se observó una mayor bioacumulación de cadmio en riñón que en hígado, poniéndose de manifiesto que el riñón fue el órgano diana para este metal tóxico (**Naccari et al., 2009**), alcanzándose concentraciones medias de 9.6 ppm para todas las aves; los niveles superiores a 6 ppm están considerados como tóxicos (**Martelli et al., 2006**). Tal como se observó para el arsénico, en el presente estudio, el cadmio se bioacumuló en hígado y riñón, siendo los niveles obtenidos superiores a los de otros autores (Tabla 54 de anexos), y finalmente, destacar que las concentraciones de cadmio fueron más elevadas en riñón (25.74 ppm p.s.) que en hígado (7.71 ppm p.s.), corroborando que el riñón fue el órgano diana en las intoxicaciones por cadmio, como lo recogen otros estudios (**Jihen et al., 2008**).

En el estudio sobre los efectos de los metales pesados sobre las ballenas, se observó en primer lugar que el factor más influyente en la acumulación de los mismos fue la edad y, por otra parte, se demostró que, desde el punto de vista histopatológico, los elevados niveles de cadmio estaban correlacionados con la hiperplasia fibromuscular pulmonar así como con la fibrosis renal (**Rosa et al., 2008**).

2.2.4. Cromo

Experimentalmente, el cromo trivalente (III) presenta una toxicidad relativamente baja comparada con compuestos de cromo hexavalente (VI). La DL_{50} oral del nitrato de cromo (III) es 25 ppm, mientras que la de cromo (VI) es 13 ppm; además estos compuestos son capaces de dañar el ADN celular. No existen evidencias de que el cromo trivalente sea carcinogénico en animales de

experimentación, sin embargo, la forma hexavalente sí ha mostrado ser carcinógena (**OSHA, 2011**).

Muchos investigadores están de acuerdo en que el cromo no se biomagnifica en las cadenas alimentarias marinas, sin embargo es un buen indicador químico de la calidad del medio ambiente. En este estudio el nivel de cromo en fúel alcanzó 5.13 ppm p.s., siendo superior al encontrado en el valor promedio de las aves (1.50 ppm p.s. en hígado y 2.21 ppm p.s. en riñón); estos niveles fueron inferiores incluso a los hallados para un alcatraz en Portugal que presentaba un nivel medio de 3.175 ppm (**Mendes et al., 2008**). La Tabla 57 de la sección de anexos presenta los niveles obtenidos en otros estudios.

2.2.5. Mercurio

En aves, el mercurio se encuentra en los tejidos en forma organomercurial¹⁰, generalmente almacenado como metilmercurio (forma más tóxica) en los órganos internos a modo de “reserva corporal” para luego eliminarlo por las plumas o por los huevos (**Bond and Diamond, 2009b**). Las aves que ingirieron peces e invertebrados bentónicos¹¹ contenían niveles de mercurio más elevados (**Goodale et al., 2010; Kim et al., 1996b; Monteiro et al., 1999**). Asimismo, las aves próximas a zonas industriales presentaban niveles más elevados de mercurio (**Bond and Diamond, 2009a; Goodale et al., 2008**).

Las concentraciones de mercurio en aves son especie dependientes, sin embargo la capacidad de eliminar Hg a través de las plumas difiere en cada especie, lo que limita la posibilidad de realizar comparaciones entre ellas (**Gil et al., 2006**). También se aprecia una variación de niveles de mercurio debida a los movimientos estacionales, atmosféricos y oceánicos en el transporte de sustancias químicas (**Ohlendorf and Harrison, 1986**).

Concentraciones entre 0.5 y 2.0 ppm de mercurio en huevos de aves son suficientes para detectar trastornos en varias especies de aves marinas (**Thompson et al., 1992**); dichos niveles pueden asimismo causar efectos adversos a nivel del sistema nervioso (**Eisler, 1987**), y de forma crónica provocan, también, una alteración en la reproducción, manifestándose con la disminución de la población (**Braune et al., 2005; Pearce et al., 1979**).

La toxicidad del mercurio en aves varía de acuerdo con la forma química del elemento, dosis, vía de administración, especie, sexo, edad y condición fisiológica (Tabla 60 de anexos). En diversos estudios, se observó una toxicidad aguda al administrar por vía oral dosis en un rango entre 2.2 y

¹⁰ Los compuestos orgánicos de mercurio, en ocasiones denominados organomercuriales, son aquellos que contienen enlaces covalentes entre el carbono y el mercurio. Ejemplos son el metilmercurio, el dimetilmercurio y el cloruro de metilmercurio.

¹¹ En ecología se llama bentos (del griego βένθος/benthos, "fondo marino") a la comunidad formada por los organismos que habitan el fondo de los ecosistemas acuáticos.

31 ppm p.v. para diferentes especies. La garza real europea (*Ardea cinerea*) es especialmente resistente al mercurio, y dosis letales muestran concentraciones entre 415 y 752 ppm p.s. en hígado de estas aves (Eisler, 1987).

En nuestro estudio, el nivel de mercurio encontrado en el fuel fue bajo (0.30 ppm p.s.), y en aves se llegaron a alcanzar niveles máximos cercanos a 25 ppm p.s., pero como promedio se obtuvieron en hígado 6.10 ppm p.s. y en riñón 5.36 ppm p.s. Estos resultados fueron superiores a los hallados por Pérez-López en aves del *Prestige*, pero similares a los hallados por Ribeiro en las costas de Portugal en el 2009. En otras publicaciones, estas concentraciones son muy variables llegando a reportarse inclusive niveles de hasta 220 ppm (Eisler, 2010).

2.2.6. Vanadio

El vanadio es un elemento que está muy descrito en medicina, sobre todo por sus propiedades similares a la actividad de la insulina; sin embargo, se sospecha de sus acciones inhibitorias sobre ciertas enzimas, su inmunotoxicidad o la causa de desórdenes neurológicos. De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, el vanadio es el elemento químico de mayor concentración en el petróleo, pero los niveles encontrados en animales petroleados no lo reflejan, debido a que su absorción oral es muy baja (entre el 1 o 2 %), lo que explica que las aves no contengan niveles tan elevados en los órganos estudiados (Kammerer *et al.*, 2004).

Los niveles de vanadio en dos especies de algas (*Fucus vesiculosus* y *Fucus ceranoides*) se vieron incrementados después del accidente del *Prestige* (Villares *et al.*, 2007), sin embargo algunos autores sugirieron que el aumento de vanadio fue debido a condiciones geológicas normales, ya que el vanadio es el segundo elemento más abundante en el mar (Prego *et al.*, 2008). Se podría destacar que la asimilación de vanadio podría variar según diferentes organismos.

El vanadio es un elemento que está poco estudiado en animales silvestres, no obstante, en aves marinas de Japón se han descrito niveles en hígado y riñón de 3.69 y 8.11 ppm p.s., respectivamente (niveles superiores a los obtenidos en este trabajo), pudiendo servir como un buen indicador para la contaminación del medio ambiente (Mochizuki *et al.*, 1999).

3. CORRELACIONES ENTRE LOS ELEMENTOS QUÍMICOS ESTUDIADOS

3.1. Correlaciones entre los metales pesados y metaloides estudiados en hígado

Se han estudiado las posibles correlaciones existentes entre los distintos elementos químicos tratados en este trabajo. En la Tabla 17 se observan las correlaciones metal a metal para el hígado; los datos de las concentraciones de los elementos químicos fueron previamente normalizados con la técnica Box-Cox.

Tabla 17. Correlaciones entre las concentraciones de los elementos químicos analizados en hígado (datos normalizados por la técnica Box-Cox).

	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
As	1											
Cd	0.17*	1										
Co	0.56*	0.32*	1									
Cu	0.56*	0.15	0.61**	1								
Cr	-0.03	0.14	0.19*	0.22*	1							
Fe	0.51*	0.18*	0.55*	0.56*	0.29*	1						
Mn	0.31*	0.35*	0.45*	0.41*	0.22*	0.40*	1					
Hg	0.34*	0.09	0.40*	0.49*	0.13	0.39*	0.41*	1				
Pb	0.03	0.34*	0.30*	0.15	0.31*	0.14	0.48*	0.07	1			
Se	0.71**	0.35*	0.66**	0.64**	0.11	0.67**	0.43*	0.40*	0.14*	1		
V	-0.26*	0.08	-0.01	0.00	0.21*	-0.11	-0.14	-0.07	0.01	-0.25*	1	
Zn	0.30*	0.36*	0.53*	0.57*	0.25*	0.49*	0.67**	0.57*	0.37*	0.46*	0.06	1

*Valores significativos ($p < 0.05$);

**Valores significativos destacados ($p < 0.05$; y $r > 0.60$)

En general las correlaciones observadas son ligeras o moderadas, aunque en algunos casos se han registrado correlaciones más significativas entre metales (entre $r = 0.60$ y $r = 0.75$). De estos últimos cabe destacar las correlaciones positivas del selenio con respecto al arsénico, cobalto, cobre y hierro, de la misma forma entre el zinc y el manganeso, así como el cobre con el cobalto.

3.2. Correlaciones entre los metales pesados y metaloides estudiados en riñón

Asimismo, se han estudiado las posibles correlaciones existentes entre las concentraciones de los distintos elementos químicos tratados en este trabajo, en el riñón. En la Tabla 18, se muestran las correlaciones metal a metal, estando las concentraciones de metales pesados y metaloides normalizados con la técnica Box-Cox, para cada elemento.

Tabla 18. Correlaciones entre las concentraciones de los elementos químicos analizados en riñón (datos normalizados por la técnica Box-Cox).

	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
As	1											
Cd	0.10	1										
Co	0.44*	0.38*	1									
Cu	0.43*	0.14	0.41*	1								
Cr	0.18*	0.22*	0.27*	0.22*	1							
Fe	0.52*	0.07	0.47*	0.46*	0.26*	1						
Mn	0.30*	0.30*	0.58*	0.46*	0.22*	0.45*	1					
Hg	0.29*	0.00	0.38*	0.24*	0.03	0.32*	0.40*	1				
Pb	0.15	0.45*	0.39*	0.25*	0.37*	0.18*	0.36*	-0.12	1			
Se	0.71**	0.24*	0.51*	0.48*	0.15	0.53*	0.51*	0.42*	0.11	1		
V	-0.07	0.04	0.04	0.14	0.21*	0.22*	-0.07	-0.20*	0.08	-0.21*	1	
Zn	0.61**	0.43*	0.64**	0.68**	0.34*	0.56*	0.61**	0.25*	0.46*	0.70**	0.07	1

*Valores significativos (p<0.05);

**Valores significativos destacados (p <0.05; y r>0.60)

Al igual que para el hígado, las correlaciones observadas en el riñón son ligeras o moderadas, aunque en algunos casos se han registrado correlaciones más significativas entre metales (intervalo: r=0.60 y r=0.75). De estos últimos, cabe destacar las correlaciones positivas del zinc con respecto al arsénico, cobalto, cobre, manganeso y selenio; de la misma forma el selenio y el arsénico muestran correlaciones importantes.

3.3. Correlaciones entre los metales pesados y metaloides estudiados en hígado y riñón

La Tabla 19 muestra el análisis de correlación entre los elementos químicos analizados en hígado y riñón, y su relación entre ellos; los datos están normalizados por la técnica Box-Cox.

Tabla 19. Correlaciones entre las concentraciones de los elementos químicos analizados en hígado y riñón (datos normalizados por la técnica Box-Cox).

Elemento	Riñón												
	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn	
Hígado	As	0.90**	0.08	0.38*	0.35*	0.15	0.38*	0.29*	0.25*	0.11	0.70**	-0.21*	0.53**
	Cd	0.12	0.81**	0.28*	0.04	0.13	-0.01	0.21*	0.08	0.25*	0.25*	-0.08	0.31*
	Co	0.42*	0.15	0.41*	0.30*	0.01	0.22*	0.33*	0.31*	0.14	0.58**	-0.28*	0.43*
	Cu	0.40*	-0.04	0.25*	0.30*	0.02	0.24*	0.27*	0.34*	-0.07	0.53**	-0.23*	0.29*
	Cr	-0.08	0.11	0.07	0.05	0.35*	0.10	0.14	0.10	0.15	0.04	-0.00	0.08
	Fe	0.39*	0.06	0.29*	0.39*	0.07	0.48*	0.38*	0.32*	-0.06	0.60**	-0.11	0.43*
	Mn	0.23*	0.34*	0.50**	0.24*	0.10	0.30*	0.79**	0.40*	0.26*	0.43*	-0.27*	0.41*
	Hg	0.25*	-0.12	0.26*	0.07	0.03	0.15	0.27*	0.79**	-0.13	0.36*	-0.28*	0.05
	Pb	-0.02	0.42*	0.26*	0.03	0.09	0.04	0.31*	-0.00	0.50*	0.10	-0.09	0.17*
	Se	0.61	0.16	0.38*	0.36*	0.00	0.38*	0.39*	0.38*	-0.03	0.84**	-0.29*	0.52**
	V	-0.38	-0.04	-0.26*	-0.23*	-0.09	-0.31*	-0.30*	-0.15	-0.20*	-0.45*	0.40*	-0.34*
	Zn	0.17	0.15	0.31*	0.19*	0.07	0.20*	0.42*	0.42*	0.06	0.35	-0.29*	0.23*

*Valores significativos (p<0.05);

**Valores significativos destacados (p <0.05; y r>0.50)

En el estudio de las correlaciones existentes metal a metal para los dos órganos, se destacan el arsénico, cadmio, selenio, manganeso y mercurio por tener valores cercanos o superiores a $r=0.80$. Por otro lado, las correlaciones existentes entre los elementos químicos estudiados y los órganos son más bien moderadas ($r<0.50$), exceptuando las relaciones del selenio presente en riñón con el arsénico, cobalto, cobre y hierro presentes en hígado. El zinc en riñón se correlaciona positivamente con el arsénico y el selenio en hígado. En la evaluación del cobalto en riñón, también se aprecia una relación positiva moderada con el manganeso.

Se ha demostrado que la interacción entre arsénico y cadmio potencia los efectos tóxicos de cada uno de estos elementos (Yáñez *et al.*, 1991), pero en la evaluación de las aves del presente estudio sólo se observa una correlación ligera ($r=0.17$) entre las concentraciones de estos elementos en hígado. Otros estudios muestran una correlación entre cadmio y zinc (Brzóska and Moniuszko-Jakoniuk, 2001; Hutton, 1981; Kim *et al.*, 1996a; Norheim, 1987), de hecho en roedores se ha observado que el zinc es un agente protector por sus características antioxidantes, antiapoptóticas y antiinflamatorias. Sin embargo, en exposiciones altas a cadmio, el zinc actúa de forma perjudicial incrementando el daño hepático (Rogalska *et al.*, 2011); en el presente trabajo se observan correlaciones significativas medias entre cadmio y zinc ($r=0.36$ y $r=0.43$ en hígado y riñón, respectivamente). Según un estudio realizado en el fulmar boreal (*Fulmarus glacialis*), se observó que existe una proteína (MT) que liga cadmio y zinc en hígado y riñón en estas aves (Daniel, 1978).

Así mismo, otros autores describen que el contenido en grasa está correlacionada negativamente con los niveles de cadmio hepático, demostrando que, como consecuencia de la migración, se produce una pérdida del 47% de la grasa corporal, y los niveles altos de cadmio contribuyen a que las aves acumulen menos grasa (Anteau *et al.*, 2007). Según Wayland *et al.*, en riñón de aves se observan correlaciones positivas del cadmio con cobre y mercurio, además del zinc (Wayland *et al.*, 2001a), pero en la presente tesis no se aprecian dichas correlaciones.

En araos de las costas de Bélgica se observaron correlaciones positivas entre el cobre y el zinc tanto en hígado como en riñón (Stewart *et al.*, 1994), estando correlacionadas positivamente también en las evaluaciones realizadas en el presente trabajo ($r=0.57$ y $r=0.68$, en hígado y riñón, respectivamente). En otros estudios realizados en aves del Polo Norte también destaca esta correlación Cu-Zn (Norheim, 1987). Por otro lado, existen hallazgos realizados por Nam *et al.*, que demuestran que tanto el cadmio como el cobre están correlacionados positivamente con el zinc (Nam *et al.*, 2005a). Este mismo autor también destaca que Cu, Zn, Cd y Ag, se encuentran distribuidos en su mayor proporción en el hepatocitosol unidos a fracciones de metalotioneína; sin embargo, la plata se comporta de manera diferente, encontrándose unida con otra molécula proteica grande o con metalotioneína, dependiendo de la especie estudiada.

En algunas especies de peces como el pez espada (*Xiphias gladius*) o el atún (*Tunus albacaris*) se observaron correlaciones positivas entre selenio y mercurio en hígado (**Kojadinovic et al., 2007b; Kojadinovic et al., 2007d**). También en aves de la Antártida y el Polo Norte se observaron estas mismas correlaciones (**Norheim, 1987**), demostrando que las metalotioneínas y el selenio contribuyen a un proceso de detoxificación en casos de intoxicación por mercurio (**Ikemoto et al., 2004**), si bien este efecto protector del selenio se describe en hígado, pero no tanto en riñón (**Jihen et al., 2008**). Según los resultados obtenidos en la presente tesis, se observa que las correlaciones entre selenio y mercurio son significativas, siendo algo más elevadas en riñón ($r=0.42$) que en hígado ($r=0.40$).

En estudios de cormoranes gigantes (*Phalacrocorax garbo*) realizados en Japón, se evaluó la distribución de 16 elementos químicos, entre los cuales el cadmio tendió a acumularse en hígado y en riñón, el cobre en músculo y el vanadio en hueso (**Nam et al., 2005c**). Así mismo, se comprobó que el vanadio hepático, el mercurio en músculo y el cadmio en hígado y riñón se incrementaron con la edad, y que las diferentes concentraciones de elementos estaban muy relacionadas con la alimentación (**Nam et al., 2005b**).

Según algunos estudios, el mercurio total en pluma, hígado y músculo están en la proporción 7:3:1, respectivamente, aunque depende del tiempo de muda y el tipo de plumas analizadas; por otra parte, el 90% del mercurio encontrado en hígado estaba en forma inorgánica (**Eisler, 2010; Stewart et al., 1997**). El mercurio se puede estudiar en plumones de los polluelos, obteniéndose mejores resultados analíticos que en los huevos; además, los niveles de mercurio tienden a incrementarse en las plumas de adultos frente a los plumones (**Stewart et al., 1997**).

El empleo de plumas en la evaluación de contaminación por metales pesados debe de tener ciertas consideraciones; en primer lugar hay que destacar que el zinc está involucrado en el proceso de formación de tegumentos (plumas), en segundo lugar que el mercurio en su forma de metilmercurio tiende a eliminarse por las plumas, y finalmente, hay que tener en cuenta que niveles elevados de elementos en plumas pueden indicar más una contaminación del medioambiente por deposición que del propio individuo (**Jaspers et al., 2004**). Se requieren estudios que determinen las concentraciones de metales pesados en órganos internos como hígado y riñón, así como en las plumas, de esa forma se podrían establecer correlaciones entre los niveles de metales externos e internos, para poder realizar estudios posteriores en animales que están en peligro de extinción y de los que no se puedan obtener muestras de órganos de forma cruenta (**Burger et al., 2007b**).

4. NIVELES DE ELEMENTOS QUÍMICOS HALLADOS EN AVES MARINAS POR ESPECIES

Atendiendo a la distribución por especies, la Tabla 20 recoge los individuos estudiados respecto a su especie y sexo; la mayor población de animales correspondió a las especies alca y arao; como puede observarse, en el estudio se aprecia una mayor cantidad de hembras que de machos.

Tabla 20. Tabla de contingencia entre especie y sexo de las aves.

Especie	Sexo de las aves			Total
	Sin determinar	Macho	Hembra	
Alca	6	14	44	64
Arao	2	19	35	56
Gaviota	4	1	9	14
Frailecillo	2	2	4	8
Cormorán	0	3	1	4
Alcatraz	0	2	0	2
Total	14	41	93	148

Habiendo sido desigual el número de animales por especie, en el estudio estadístico toxicológico se realizó una agrupación de especies en: alca, arao, gaviota y frailecillo, excluyendo al cormorán y al alcatraz por tener pocos individuos. Asimismo, el grupo de animales del que no se pudo determinar el sexo quedó también excluido del análisis estadístico. De esa forma, el estudio se centró en analizar la variabilidad que aportaba el grupo por especie (Tabla 21), destacando que las especies alca (*Alca torda*) y arao (*Uria aalge*) fueron, en general, las más numerosas (Balseiro *et al.*, 2005; CSIC, 2003a), presentando ambas el mayor tamaño de muestra. Así, el presente estudio se centró en 64 muestras de alca, 56 de arao, 14 de gaviota y 8 de frailecillo, pudiendo de esta forma aplicar estudios estadísticos más robustos.

Tabla 21. Tabla de contingencia entre especies divididas en cuatro categorías y el sexo de las aves marinas.

Especie	Sexo de las aves			Total
	Sin determinar	Macho	Hembra	
Alca	6	14	44	64
Arao	2	19	35	56
Gaviota	4	1	9	14
Frailecillo	2	2	4	8
Total	14	36	92	142

La Tabla 22 (oligoelementos) y la Tabla 23 (elementos tóxicos) muestran de forma global las concentraciones de los elementos estudiados en hígado y riñón, agrupando los resultados de acuerdo con la categoría especie, considerando las 6 especies del estudio.

Tabla 22. Concentraciones (ppm p.s.) y parámetros estadísticos de los oligoelementos químicos estudiados en hígado y riñón por especies de aves.

Elemento	Especie	N	Hígado				Riñón			
			Media	Des.tip.	Mín.	Máx.	Media	Des. tip.	Mín.	Máx.
Cobalto	Alca	63	0.29	0.54	0.02	4.39	0.31	0.34	0.01	2.29
	Alcatraz	2	0.12	0.07	0.07	0.17	0.58	0.35	0.33	0.82
	Arao	56	0.47	0.76	0.11	5.86	0.53	0.63	0.15	4.60
	Cormorán	4	0.25	0.19	0.03	0.43	0.77	0.62	0.22	1.37
	Frailecillo	8	0.45	0.47	0.02	1.32	0.60	0.94	0.03	2.86
	Gaviota	14	0.14	0.07	0.04	0.23	0.27	0.20	0.03	0.78
Cobre	Alca	63	119.77	69.33	0.12	350.68	48.29	27.79	17.75	146.18
	Alcatraz	2	41.27	4.92	37.79	44.75	68.83	16.97	56.83	80.82
	Arao	56	142.29	69.48	0.27	302.06	77.18	43.54	0.08	227.39
	Cormorán	4	63.09	55.20	0.37	115.62	41.21	34.68	15.05	90.90
	Frailecillo	8	106.70	51.91	35.35	188.76	36.33	24.34	9.50	86.96
	Gaviota	14	26.75	15.00	13.20	71.15	37.60	20.55	18.40	77.16
Hierro	Alca	63	3735.54	2107.65	312.71	11029.21	904.24	672.29	314.09	4857.56
	Alcatraz	2	4261.13	2086.57	2785.70	5736.55	753.97	84.90	693.93	814.00
	Arao	56	7030.21	4256.75	818.93	19742.01	1194.00	573.37	461.86	4230.80
	Cormorán	4	5031.59	3515.48	2441.46	10100.80	1182.04	435.46	796.07	1807.51
	Frailecillo	8	3967.09	4519.90	752.61	12089.25	732.90	347.50	240.10	1299.44
	Gaviota	14	1489.40	1004.11	227.74	3697.96	738.10	504.68	208.65	2065.94
Manganeso	Alca	63	13.86	12.37	0.38	43.33	13.77	11.78	0.53	46.82
	Alcatraz	2	32.39	20.40	17.96	46.82	26.76	1.03	26.04	27.49
	Arao	56	23.22	8.39	10.61	44.35	25.30	8.59	8.04	49.55
	Cormorán	4	47.02	44.48	18.06	113.33	49.85	58.07	15.40	136.62
	Frailecillo	8	25.23	21.58	1.24	54.83	9.35	6.38	2.60	21.53
	Gaviota	14	16.31	8.35	6.32	32.91	16.56	9.72	7.74	45.35
Selenio	Alca	63	22.79	12.79	7.33	62.03	39.62	25.44	9.47	112.75
	Alcatraz	2	25.84	12.33	17.13	34.56	32.34	8.79	26.12	38.56
	Arao	56	42.85	17.59	15.56	85.89	71.89	34.55	27.96	184.42
	Cormorán	4	12.74	9.76	4.67	26.94	23.29	27.49	6.87	64.42
	Frailecillo	8	32.01	21.45	5.00	62.35	51.54	38.98	11.12	126.58
	Gaviota	14	5.41	3.14	2.20	12.55	10.95	8.02	4.98	35.13
Zinc	Alca	63	277.36	146.21	83.70	779.54	238.26	127.56	73.61	866.23
	Alcatraz	2	664.45	193.00	527.98	800.92	277.09	75.13	223.97	330.22
	Arao	56	280.74	106.65	139.01	647.05	437.17	199.48	205.77	1332.23
	Cormorán	4	567.43	417.12	271.04	1181.33	176.59	125.62	99.20	362.34
	Frailecillo	8	361.13	204.76	95.13	633.00	244.62	123.35	102.97	500.50
	Gaviota	14	178.15	73.03	102.01	302.86	256.13	128.35	157.93	622.04

Tabla 23. Concentraciones (ppm p.s.) y parámetros estadísticos de los elementos químicos tóxicos estudiados en hígado y riñón por especies de aves.

Elemento	Especie	N	Hígado				Riñón			
			Media	Des. tip.	Mín.	Máx.	Media	Des. tip.	Mín.	Máx.
Arsénico	Alca	63	31.53	34.90	0.69	218.44	21.43	23.90	0.84	139.55
	Alcatraz	2	2.55	2.83	0.54	4.55	3.60	4.34	0.53	6.68
	Arao	56	69.19	57.42	3.46	275.15	40.10	45.71	2.07	332.70
	Cormorán	4	1.27	0.88	0.16	2.31	1.85	2.01	0.16	4.59
	Frailecillo	8	48.17	43.32	3.56	109.26	22.06	20.45	4.91	56.51
	Gaviota	14	3.09	4.54	0.64	18.41	4.03	7.77	0.43	29.45
Cadmio	Alca	63	2.68	1.78	0.67	8.80	7.33	5.34	1.59	34.15
	Alcatraz	2	8.65	4.60	5.40	11.90	49.27	25.40	31.30	67.23
	Arao	56	7.77	20.46	0.77	152.77	20.52	41.07	2.43	247.67
	Cormorán	4	2.75	2.57	0.78	6.33	19.48	29.28	0.92	62.72
	Frailecillo	8	48.61	45.74	0.98	133.48	132.09	123.17	8.17	370.93
	Gaviota	14	8.03	5.39	0.37	17.80	71.26	47.48	3.11	169.12
Cromo	Alca	63	1.36	2.84	0.02	18.61	1.79	2.45	0.01	17.08
	Alcatraz	2	0.34	0.07	0.29	0.38	1.79	0.95	1.12	2.46
	Arao	56	1.76	3.50	0.05	22.57	2.82	4.03	0.08	20.89
	Cormorán	4	1.11	0.95	0.37	2.38	1.00	0.99	0.05	2.40
	Frailecillo	8	0.82	0.58	0.30	1.99	2.31	3.00	0.14	9.50
	Gaviota	14	1.81	3.25	0.23	10.78	2.11	2.36	0.42	9.43
Mercurio	Alca	63	6.57	3.50	1.91	19.53	5.38	2.73	1.26	15.64
	Alcatraz	2	5.05	1.71	3.84	6.26	7.12	4.10	4.22	10.02
	Arao	56	5.89	2.13	2.69	11.49	5.71	2.08	2.46	11.85
	Cormorán	4	14.86	9.08	6.12	25.99	12.95	8.54	5.45	25.03
	Frailecillo	8	6.94	3.15	2.28	9.85	4.27	1.70	1.96	7.05
	Gaviota	14	1.96	1.28	0.54	4.58	1.89	0.94	0.87	4.24
Plomo	Alca	63	0.50	3.32	0.00	26.33	0.10	0.19	0.00	1.40
	Alcatraz	2	0.11	0.13	0.02	0.20	0.29	0.41	0.00	0.57
	Arao	56	0.07	0.09	0.00	0.46	0.20	0.28	0.00	1.47
	Cormorán	4	0.13	0.07	0.02	0.18	0.07	0.07	0.00	0.13
	Frailecillo	8	0.15	0.10	0.01	0.29	3.24	8.82	0.00	25.06
	Gaviota	14	0.58	0.59	0.08	1.92	4.13	5.60	0.36	18.37
Vanadio	Alca	63	0.77	0.37	0.23	1.85	1.04	0.52	0.20	2.66
	Alcatraz	2	0.83	0.21	0.68	0.98	1.07	0.05	1.03	1.10
	Arao	56	0.72	0.33	0.22	1.95	1.04	0.47	0.43	2.21
	Cormorán	4	0.89	0.36	0.39	1.26	1.32	0.70	0.53	2.22
	Frailecillo	8	0.71	0.22	0.35	0.99	0.76	0.37	0.19	1.25
	Gaviota	14	1.03	0.34	0.36	1.71	1.49	0.30	1.11	2.25

Se realizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) entre las especies con mayor número de individuos: alca, arao, frailecillo y gaviota. Se consideró como resultado el estadístico de Welch por asumir que no existe una normalidad de las variables. Para todos los elementos químicos estudiados, a excepción del cromo, tanto en hígado como en riñón, los resultados indicaron que existía una diferencia significativa entre las especies, como se observa en la Tabla 24.

Tabla 24. Comparación de las concentraciones (ppm p.s.) y parámetros estadísticos de los elementos químicos por especie, considerando alca, arao, frailecillo y gaviota. Realizado con el estadístico de Welch.

Elemento	Hígado		Riñón	
	Estadístico de Welch	p-valor	Estadístico de Welch	p-valor
Arsénico	64.25	< 0.01	27.07	< 0.01
Cadmio	10.85	< 0.01	22.66	< 0.01
Cobalto	16.61	< 0.01	10.02	< 0.01
Cobre	59.07	< 0.01	5.26	0.01
Cromo	1.05	0.38	0.86	0.48
Hierro	24.42	< 0.01	7.83	< 0.01
Manganeso	11.53	< 0.01	22.28	< 0.01
Mercurio	20.31	< 0.01	24.81	< 0.01
Plomo	21.75	< 0.01	23.30	< 0.01
Selenio	89.10	< 0.01	56.19	< 0.01
Vanadio	3.70	0.02	12.85	< 0.01
Zinc	5.30	0.01	24.80	< 0.01

En la Figura 71, se pueden observar las representaciones gráficas de caja y bigotes, mostrando los diferentes niveles de elementos químicos estudiados en hígado y riñón de las aves marinas. Los datos están normalizados con la técnica Box-Cox. Las aves se distribuyeron en las cuatro especies que tenían mayor número de individuos: alca, arao, frailecillo y gaviota; de esa forma en las gráficas se pueden observar las diferencias influenciadas por la especie.

Las aves, sus plumas o sus huevos están siendo estudiados y aplicados como bioindicadores de la calidad del medio ambiente (Albanis *et al.*, 2003; Espín *et al.*, 2012b), lo que permite evaluar los niveles de contaminantes tales como metales pesados, PCBs o pesticidas organoclorados, así se evita, sobre todo, el estudio experimental en aves que pueden estar catalogadas como en peligro de extinción (arao en las costas de Galicia). En este sentido, la tragedia del vertido de petróleo del *Prestige* supuso una oportunidad única, desde el punto de vista científico, para poder evaluar órganos internos como el hígado y riñón, y medir los niveles de metales pesados en las aves marinas víctimas de dicho vertido.

Cabe destacar que según algunos autores, existen diversas variables que se pueden considerar importantes para evaluar los efectos patológicos de sustancias tóxicas y la biodisponibilidad de elementos químicos, como son la edad, género, tamaño, características genéticas, comportamiento (niveles tróficos), además de la interacción entre todas ellas (**Piatt and Anderson, 1996**). Sin embargo, la especie es la variable más importante para tener en consideración, como es el caso de las gaviotas, cuyo comportamiento es tan diferente al de las aves marinas buceadoras del grupo de los álcidos, que por si mismo podría justificar la variabilidad en los niveles de elementos tóxicos obtenidos en nuestro resultados, entre ambas especies. Como ejemplo, en un estudio se observó que las aves omnívoras tenían una actividad enzimática alta de tipo oxidativo (en particular la enzima aldrrín epoxidasa), que permitiría a las gaviotas una mejor adaptación a los ambientes contaminados, al producir antioxidantes capaces de hacer frente al estrés padecido, al contrario de lo que ocurre en el caso de los cormoranes (**Fossi et al., 1995**).

Los resultados obtenidos en el presente estudio se pueden dividir atendiendo a los órganos estudiados en hígado y riñón.

En hígado, la especie arao tuvo las concentraciones más elevadas de los oligoelementos: cobalto, cobre, hierro, manganeso y selenio, mostrando también los niveles más elevados del metaloide tóxico arsénico. El frailecillo, asimismo, presentó niveles más elevados de cadmio, seguido de la gaviota. El grupo de las gaviotas destaca por tener las concentraciones más elevadas de plomo y vanadio de entre todas las especies estudiadas; sin embargo presenta los niveles más bajos de arsénico, cobalto, cobre, hierro, mercurio, selenio y zinc.

En el riñón, la especie alca presentó los niveles más bajos de cadmio. El arao, al igual que en el hígado, presentó los niveles más elevados de los oligoelementos: cobalto, hierro, cobre, manganeso, selenio y zinc, y del metaloide arsénico. El frailecillo destaca por tener los niveles más altos de cadmio. Las gaviotas presentaron los niveles más bajos de arsénico, mercurio y selenio, sin embargo los más elevados de plomo y vanadio.

Estos resultados se pueden interpretar describiendo dos grupos de aves, aquellas que se sumergen en el mar profundamente para obtener el alimento como son el alca, frailecillo y arao, en las que se encontraron los niveles más elevados de mercurio y oligoelementos, y por otra parte las gaviotas que presentaron niveles bajos en oligoelementos y superiores de plomo y vanadio, ambos elementos tóxicos relacionados con una contaminación de origen antropogénico, ya que estas aves se alimentan en zonas cercanas a las ciudades y focos de desperdicios urbanos.

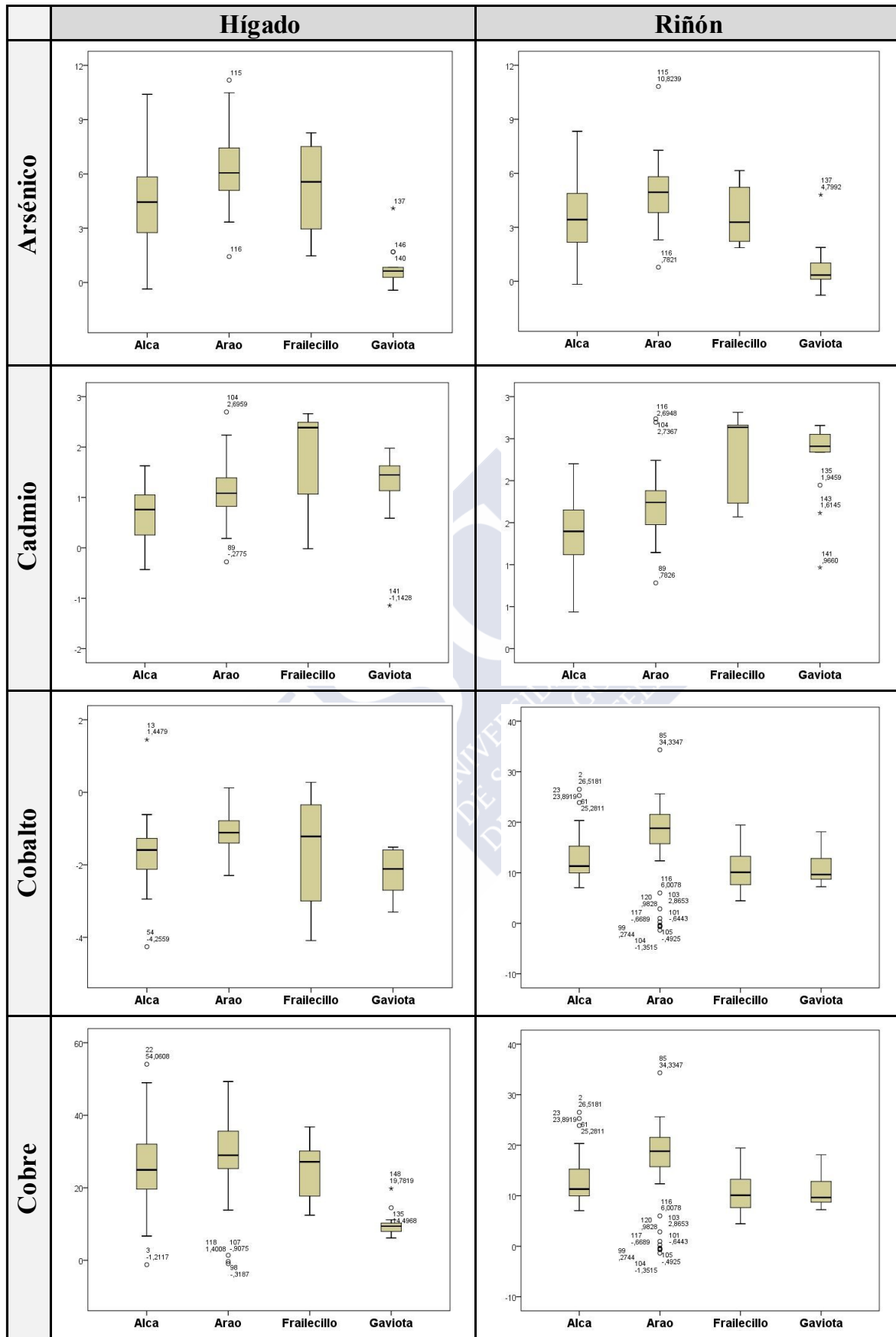


Figura 71. Representaciones gráficas de caja y bigotes de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas (datos normalizados por la técnica Box-Cox).

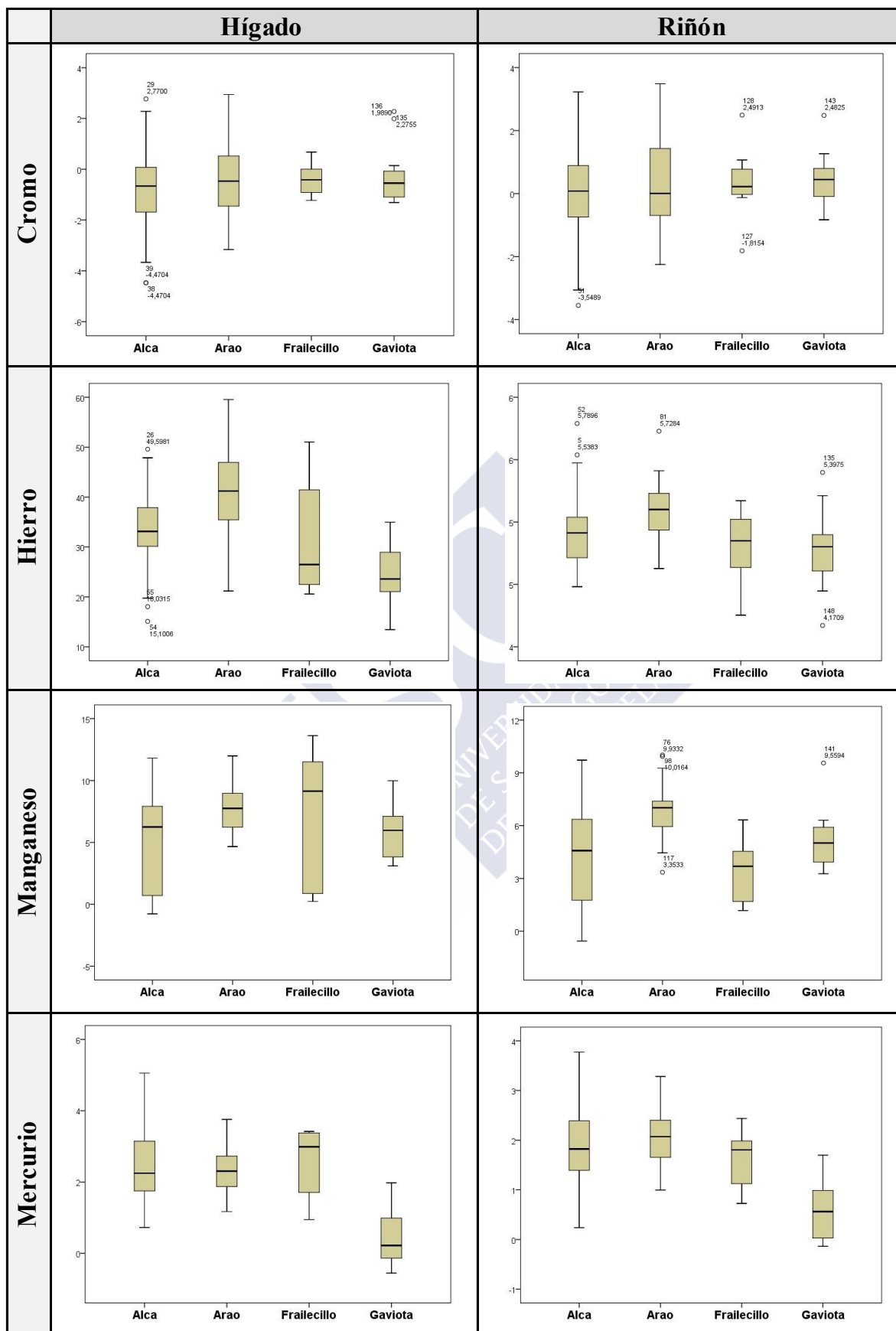


Figura 71 (cont.). Representaciones gráficas de caja y bigotes de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas (datos normalizados por la técnica Box-Cox).

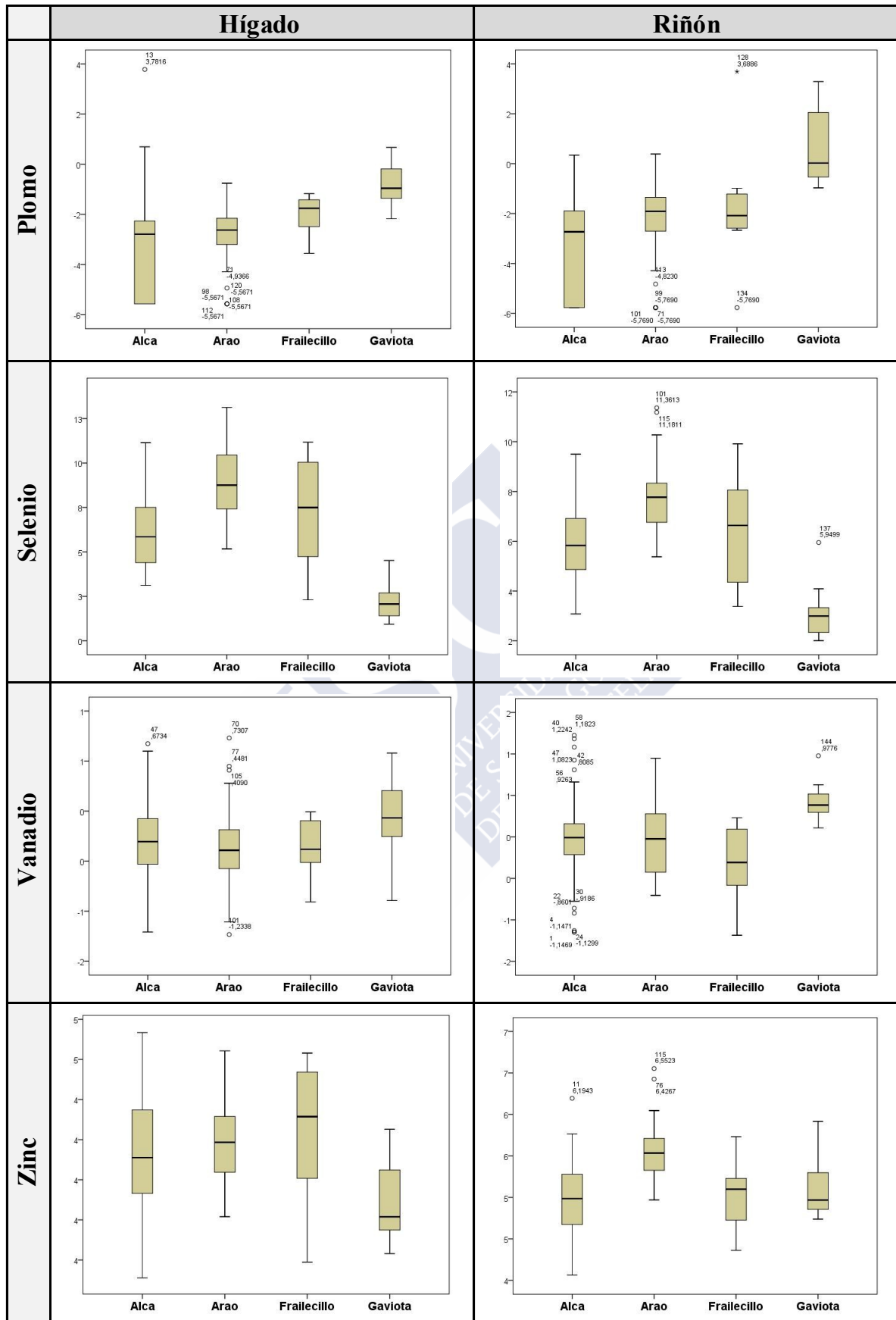


Figura 71 (cont.). Representaciones gráficas de caja y bigotes de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas (datos normalizados por la técnica Box-Cox).

4.1. Alca común (*Alca torda*)

Las alcas son aves de vida media larga, con un promedio de 13 años, aunque se ha publicado el caso de un alca en Inglaterra que se avistó a los 41 años (McCarthy, 2012); se ha observado que los cambios en la temperatura de los océanos están afectando a la tasa de natalidad y supervivencia de esta especie (Lavers *et al.*, 2008b).

Las alcas son aves migratorias que pasan los inviernos en zonas más cálidas como el Mediterráneo y, actualmente, se utilizan sus plumas como bioindicadores de la calidad del ambiente para la cuantificación de metales pesados o pesticidas organoclorados. Un estudio de estas aves muertas provenientes de la costa este del Mediterráneo español mostró concentraciones de pesticidas organoclorados (POC) más elevadas que en Irán o Bélgica, y se observó que estos niveles aumentaron de acuerdo con la edad del animal, no reflejándose influencia del sexo (Espín *et al.*, 2010; Espín *et al.*, 2012b).

Los grandes álcidos como las alcas y los araos, tienden a sumergirse más profundamente que otras aves marinas tales como los frailecillos o las golondrinas de mar; así, son capaces de capturar peces de mayor talla, de más edad y probablemente con más concentración de mercurio, estando relacionado con las mayores concentraciones de mercurio halladas en esta especie. En huevos de alcas en las costas de Maine-EE.UU., se encontraron concentraciones de 0.18 ppm, inferiores a las de otras especies como el arao o cormoranes de la misma zona (Goodale *et al.*, 2008). En la misma zona de estudio se evaluó la concentración de mercurio en diversos órganos; las alcas mostraron concentraciones más elevadas de este metal, hecho que se relacionó con la dieta (Bond and Diamond, 2009b). En las costas del Mediterráneo se estudió el contenido de mercurio en hígado y riñón en esta especie, obteniéndose concentraciones de 2.85 ± 0.90 ppm y 2.23 ± 0.87 ppm, respectivamente; estos niveles son comparables a los de una exposición crónica a metilmercurio de 0.5 ppm vía oral (Espín *et al.*, 2012a).

En alcas provenientes de las costas de Portugal estudiadas por Ribeiro *et al.*, se observó que, los niveles de mercurio (6.09 ppm) y cromo (1.80 ppm) en hígado fueron elevados respecto a otros estudios realizados en las costas de Galicia (Pérez-López *et al.*, 2006) y en el mar de Barents (Savinov *et al.*, 2003), aunque inferiores a los datos del presente estudio. Con respecto al selenio y cadmio se acumularon más en riñón, mientras que el zinc y el plomo lo hicieron en plumas, y por último, arsénico y manganeso en hígado. La edad fue un factor positivo influyente en la acumulación de cadmio, cromo y mercurio; sin embargo, las aves juveniles presentaron mayores niveles de cobre y manganeso. En el riñón, entre zinc y mercurio se mostró la correlación más

fuerte. En hígado, las correlaciones más importantes fueron entre zinc y cobalto (**Ribeiro et al., 2009**).

4.2. Arao común (*Uria aalge*)

En Galicia, la situación del arao antes del accidente del *Prestige* era muy complicada, ya que sólo quedaban 11 parejas en el litoral gallego. Diversos estudios demostraron que el porcentaje de éxito de supervivencia después de un accidente por petróleo depende de varios factores, tales como la especie, grado de impregnación, edad, etc.; en el caso del arao, el éxito en la reproducción fue muy bajo (**Mead, 1997**), y después del accidente desapareció por completo el anidamiento de estas aves hasta el año 2009, año en que se observó una pareja de araos en las costas de Galicia (**Arcos, 2009**).

Durante los 6 primeros meses de 1993, se hallaron en las costas de Alaska 3500 araos muertos, la mayoría con signos de caquexia; según los diversos estudios realizados se determinó que la causa de estas muertes era debida a una escasez de alimentos provocada por los cambios climáticos ocurridos como consecuencia del fenómeno meteorológico del Niño (**Piatt and Van Pelt, 1997**).

Estudios realizados en Canadá entre los años 1980-2006, demostraron que uno de los principales alimentos del arao era el capelán (*Mallotus villosus*) y que la abundancia de este pez, estaba relacionada con los hábitos del arao, de tal forma que un retraso de la aparición de estos peces en las zonas habituales o una reducción, consecuencia de las temperaturas del agua, haría que los araos dejaran de reproducirse por falta de alimento. En estos últimos años, en los que se han demostrado las variaciones de las temperaturas a nivel ambiental y marino, es preciso destacar que la alimentación de esta especie también estaba relacionada con su supervivencia (**Regular et al., 2009**), por eso recientemente se están realizando investigaciones sobre la fenología¹² y la respuesta de los araos a estos cambios climáticos (**Reed et al., 2008**).

Al igual que otros álcidos como los alcas, los araos se sumergen a más profundidad consumiendo peces de mayor tamaño; además, se ha observado que el mercurio hallado en plumas y huevos estaba en la forma de metilmercurio, por lo que se sospechó que este metal queda en los órganos internos en su forma inorgánica, después de la desmetilación de este (**Bond and Diamond, 2009a**).

En un estudio llevado a cabo desde el invierno de 1993-1994 al invierno de 1997-1998, se examinaron araos que aparecieron muertos en las costas de Bélgica; en el 85% de las aves se

¹²**fenología.** (Del gr. φαίνεiv, mostrar, aparecer, y -logía).

1. f. Parte de la meteorología que investiga las variaciones atmosféricas en su relación con la vida de animales y plantas.

observó desde una moderada hasta una severa caquexia. El análisis de metales pesados mostró que los niveles de Cu y Zn eran más altos que los presentados en estudios sobre aves que habitaban en áreas más protegidas en el mismo Mar del Norte; por otra parte, estos dos metales estaban correlacionados negativamente con el grado de caquexia (**Debacker et al., 2000**).

Los resultados de las investigaciones en araos sugieren que la producción de metalotioneínas es una respuesta a las condiciones de estrés, ofreciendo además un efecto citoprotector contra los iones de cobre libres (**Bouquegneau et al., 2001**).

A dos grupos de codornices, en condiciones experimentales, se les administró cobre, zinc y metilmercurio; a un grupo se le privó de alimento y el otro recibió una dieta normal. Al final, se comprobó que las aves en condición de ayuno presentaron en hígado y riñón niveles superiores de metales pesados de la misma manera que en araos caquéticos de las costas de Bélgica, los cuales mostraron concentraciones más elevadas de metales en hígado y riñón que aquellos que tenían mejor condición corporal al morir (**Debacker et al., 2001a**).

Los niveles de mercurio determinados en huevos de arao y arao de Brunnich o de pico ancho, recogidos en Alaska y en el mar de Bering en dos períodos diferentes (1999 – 2001), mostraron que las concentraciones obtenidas en la colonia del mar de Bering fueron mayores que las de Alaska, además, existió una baja variabilidad *intra* especies, por lo que fue posible utilizar los huevos de estas aves para una evaluación de la distribución de mercurio en el medioambiente (**Day et al., 2006**). Estudios posteriores de estas aves, en la misma región, mostraron que los huevos de arao tienen mayores concentraciones de mercurio y que estas además de estar relacionadas con la dieta, también se relacionan con la ubicación de la colonia (**Day et al., 2012**).

La comparación de las concentraciones de elementos químicos en araos es posible considerando diversos factores (edad, condición corporal, sexo), así Wenzel y Adelung (1996) en la evaluación de diversos metales pesados observaron que el sexo no influyó en los valores de estos, pero sin embargo, sí destacaron una correlación negativa del cobre y zinc en función de la condición corporal.

Estudios llevados a cabo en el mar de Barents de diversas poblaciones de 3 especies de aves marinas, incluido el arao, mostraron que la población de estos se había recuperado satisfactoriamente después de una disminución por falta de alimento durante los años 1986-1989; la adaptación de los araos indicó que estas aves podían estabilizar su población con los suficientes recursos alimenticios (capelán: *Mallotus villosus*), sin embargo, en competencia por el alimento con las gaviotas tridáctilas, el arao tiene menos posibilidades de éxito (**Durant et al., 2012**).

En un estudio experimental llevado a cabo con araos de Escocia, los niveles obtenidos de mercurio y cadmio no fueron elevados, sin embargo, lo que destacó de este estudio fue la variación temporal de estos dos elementos, observándose niveles más elevados en los meses comprendidos entre abril y junio, probablemente como consecuencia del proceso de muda y el cambio de dieta (Stewart *et al.*, 1994). Siguiendo este razonamiento, las aves evaluadas en el presente estudio, tendrían niveles inferiores a los que se podría esperar para el verano europeo.

Las concentraciones determinadas en el presente estudio de mercurio (5 ppm aprox.) en arao son dos veces superiores a los reportados por Stewart *et al.* en Escocia y por Wenzel y Adelung en Noruega, sin embargo inferiores a los hallados en 1984 por Delbeke *et al.* en Bélgica. Los niveles de plomo hallados en nuestro estudio (0.2 ppm aprox.) son considerablemente inferiores hasta en cuatro veces por los indicado por Pérez-López *et al.* en las costas de Galicia.

4.3. Cormorán moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*)

Gallego *et al.*, estudiaron en Galicia la presencia de cadmio y plomo en cormoranes muertos como consecuencia del hundimiento del petrolero *Prestige* en 2002, considerando como aves control a aquellas encontradas en las costas en el año 2005. Se observó que las aves afectadas por el *Prestige* tuvieron unos niveles medios de cadmio de 0.25 ppm, y de 0.11 ppm los animales limpios, mientras los niveles de plomo fueron de 0.012 ppm en animales petroleados y 0.016 ppm en animales limpios.

Otro estudio realizado por Carbonell *et al.* en cormoranes y alcatraces procedentes de las costas de Galicia durante el accidente del *Prestige*, mostró concentraciones de mercurio hepático en cormorán moñudo (7.6 ppm) superiores a las de alcatraz (1.6 ppm). Por el contrario, para el plomo, las aves de la especie alcatraz presentaron niveles superiores a los del cormorán moñudo (0.008 vs. 0.005 ppm peso húmedo).

Los peces demersales tienen mayores niveles de mercurio que los pelágicos, por lo tanto las aves que consuman este tipo de peces tienen mayores niveles de mercurio en hígado y riñón. Los estudios realizados en aves que comen los desperdicios de la industria pesquera y tienen más acceso a peces demersales contienen mayores niveles de mercurio que los que no tienen esa práctica, por eso, quizás el cormorán, al ser un ave que tiene capacidad de buceo profundo, no tenga elevados niveles de mercurio (Arcos *et al.*, 2002).

De las aves analizadas en el presente estudio, los cormoranes presentaron los niveles más elevados de mercurio en hígado y riñón; además, cabe destacar que pertenecen a los animales del grupo control (sin fuel en el tracto gastrointestinal), lo que puede explicar que los niveles tan elevados en

hígado (13.69 ppm) en comparación con las otras especies y otros estudios (**Carbonell et al., 2007; Elliott and Scheuhammer, 1992**) sean debidos a contaminaciones previas.

Así mismo, en el presente trabajo se obtuvieron niveles más elevados de metales que los mostrados en una especie de la familia de *Phalacrocoracidae* como el *Phalacrocorax carbo sinensis* estudiado en Murcia (**Navarro et al., 2010**).

4.4. Alcatraz atlántico (*Morus bassanus*)

Un estudio llevado a cabo en las costas de Galicia por Carbonell *et al.*, mostró que los niveles medios de mercurio hepático estaban comprendidos entre 1.6 y 1.8 ppm peso húmedo, teniendo un valor máximo de 20 ppm en un individuo afectado por el petrolero *Prestige*. Para el plomo se obtuvieron niveles superiores a los encontrados en el cormorán moñudo del mismo estudio.

Gallego *et al.*, estudiando el cadmio y el plomo en aves muertas como consecuencia del vertido del *Prestige* en 2002 y utilizando como controles aves encontradas en las costas de Galicia en el 2005, mostraron los siguientes resultados: en aves impregnadas los niveles medios de cadmio en hígado fueron 2.31 ppm, y 2.10 ppm en animales limpios, mientras que los niveles de plomo fueron 0.036 ppm en animales petroleados y 0.033 en animales limpios.

En un estudio realizado en alcatraces de las costas de Portugal (**Mendes et al., 2008**), se observaron niveles altos de mercurio, selenio y cadmio en riñón, mientras que en hígado destacaron los elevados niveles de manganeso, siendo los niveles de plomo en plumas también elevados. En el estudio estadístico, se observaron correlaciones positivas del selenio con respecto al cadmio y al mercurio.

En el presente estudio, las concentraciones de arsénico halladas (3 ppm aprox.) en hígado y riñón fueron similares a las reportadas por Mendes *et al.*, 2008 en Portugal, respecto al cadmio en riñón, los valores hallados por nosotros fueron superiores (50 ppm aprox.) a los del mismo autor (35 ppm aprox.); sin embargo las concentraciones de cromo en riñón del presente estudio (1.7 ppm aprox.) son inferiores a los reportados en Portugal (3 ppm aprox.).

4.5. Gaviota patiamarilla (*Larus michahellis*)

En un estudio efectuados sobre plumas de gaviotas cocineras (*Larus dominicanus*) de Brasil se observó que los metales pesados estudiados (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn) presentaban diferencias significativas de acuerdo con la edad de las aves, concluyendo que a mayor edad existía mayor concentración de los elementos estudiados; asimismo, se observó que los niveles de elementos no esenciales (Cd, Ni y Pb) fueron inferiores a los de otros estudios realizados en aves marinas del Atlántico (**Barbieri et al., 2010**).

Una gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) en la Patagonia mostró niveles de hasta 491 µg/g peso húmedo de cadmio en riñón (**Gil et al., 2006**), superando hasta en 10 veces el valor máximo encontrado en el presente estudio.

En experimentos realizados con huevos de gavión atlántico (*Larus marinus*) y gaviota argéntea (*Larus argentatus*) expuestos a petróleo, se observó que la supervivencia era inversamente proporcional a la cantidad de petróleo expuesto, sin embargo, una vez superado el período de incubación de 28 días, las aves nacidas resistían dosis más altas de petróleo; la gaviota es, pues, una especie que muestra mayor resistencia que otras especies a los efectos tóxicos del petróleo (**Lewis and Malecki, 1984**), debido en parte a su menor sensibilidad comparada con otras especies, así una mayor adaptabilidad y potencial reproductivo que podría equilibrar la población en casos de accidentes petroleros.

La ingestión de petróleo en gaviotas provoca la interrupción del crecimiento, hipertrofia hepática, adrenal y nasal, multiplicando los efectos subletales para poder sobrevivir en la naturaleza (**Miller et al., 1978**).

Al evaluar los niveles de metales en gaviota argentaria (*Larus argentatus*), el cadmio sólo se detectó en hígado (1.86 ppm) y riñón (13.7 ppm), estando las concentraciones correlacionadas en ambos órganos; por otra parte, las concentraciones de zinc más elevadas se encontraron en el intestino (140 ppm), observándose correlaciones entre cadmio y zinc en riñón (**Nicholson, 1981**).

Cuando se administró por vía oral petróleo proveniente del petrolero *Prestige* a gaviotas patiamarillas (*Larus michahelis*), se observó que los niveles plasmáticos de antioxidantes aumentaron, mientras que la coloración de estas aves disminuyó (*red bill spot*) (**Pérez, 2009; Pérez et al., 2010a; Pérez et al., 2010b**).

Algunos trabajos de monitorización de las gaviotas mostraron niveles elevados de HAPs después del derrame del *Prestige*, como consecuencia de la contaminación a medio plazo (**Pérez et al., 2008**). Sin embargo, en cuanto a estudios de oligoelementos y metales tóxicos para esta especie

(*Larus michahellis*) no se han encontrado antecedentes bibliográficos, por lo que algunos de los resultados se comparan con especies de gaviotas semejantes a esta, como la gaviota cocinera o argétea (ver diferencias en capítulo de introducción).

4.6. Frailecillo (*Fratercula arctica*)

Los estudios sobre hígado y riñón de *Puffinus gravis*, realizados en la costa del Atlántico norte de Brasil, mostraron que los niveles de cadmio en riñón eran más elevados que los de hígado, y que a su vez eran más elevados en adultos que en ejemplares juveniles. Respecto al cobre, los niveles encontrados en hígado fueron mayores que los del riñón, siendo más elevados en adultos que en jóvenes. El manganeso apenas mostró diferencias de concentración entre ambos órganos, sin embargo, los niveles en aves juveniles tenían una tendencia a ser más elevados que en los adultos. Finalmente, para el plomo no se observó una marcada diferencia entre ambos órganos, mientras que sí se pudo apreciar un incremento de niveles de acuerdo con la edad, siendo los adultos los que alcanzaron mayores niveles. Este estudio también mostró que los niveles de los metales no esenciales (Cd, Ni y Pb) fueron inferiores a los observados en estudios del Atlántico norte, quizás provocado por la mayor actividad industrial de esta zona y una posible contaminación marina de carácter antropogénico (Barbieri *et al.*, 2007).

Parslow *et al.* en 1972, analizó el cadmio en frailecillos encontrando niveles de cadmio en hígado de 22.3 ppm p.s.; posteriormente, Bull *et al.*, observaron en un fulmar glacial niveles de hasta 159 ppm.

Los niveles de cadmio, mercurio y zinc fueron evaluados en diferentes tejidos de 3 especies de aves pelágicas: frailecillo (*Fratercula arctica*), fulmar boreal (*Fulmarus glacialis*) y pardela pichoneta (*Puffinus puffinus*). Las mayores concentraciones de cadmio y zinc fueron obtenidas en riñón, hígado, páncreas, gónadas e intestinos, con niveles de hasta 480 ppm p.s. de cadmio en riñón; los mayores contenidos de mercurio se hallaron en hígado del fulmar y de la pardela (hasta 45 ppm p.s.); los niveles de mercurio en las plumas de frailecillos fueron más elevados (7.94 ppm p.s.) que en hígado y riñón (Osborn *et al.*, 1979).

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN AVES CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE FUEL EN EL APARATO DIGESTIVO

En la Tabla 25 se pueden apreciar las especies de aves estudiadas en 4 grupos: alca, arao, frailecillo y gaviota. Cabe destacar que el mayor grupo lo representan los animales que presentaban petróleo a nivel del tracto gastrointestinal; para el grupo control se consideraron aquellas aves que no tenían petróleo externamente ni tampoco en el aparato digestivo (limpias), y que podrían haber muerto por causas naturales tales como la edad, estrés, fatiga de la migración, etc.

Tabla 25. Especies de aves marinas afectadas por el petrolero *Prestige*, agrupadas de acuerdo con la presencia o ausencia (control) de fuel en el aparato digestivo.

Especies	Número de aves según presencia/ausencia de fuel		Total
	Control	Aves con fuel en aparato digestivo	
Alca	8	56	64
Arao	10	46	56
Gaviota	11	3	14
Frailecillo	1	7	8
Total	29	114	147

La Tabla 26 y la Tabla 27 muestran los niveles de elementos químicos estudiados en hígado y riñón en las aves que ingirieron petróleo y en las limpias (control).

Tabla 26. Concentraciones medias (ppm p.s.) de los elementos químicos estudiados en hígado de aves que ingirieron petróleo y en aves control.

Especie	Categoría	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Control	25.41	1.58	0.70	120.36	0.59	2885.11	15.91	5.48	3.56	19.16	0.56	297.42
	Aves con petróleo interno	32.42	2.84	0.23	119.69	1.47	3859.24	13.56	6.73	0.05	23.32	0.80	274.45
Arao	Control	56.82	6.16	0.39	142.47	1.55	5366.37	24.53	6.60	0.09	35.84	0.71	286.73
	Aves con petróleo interno	71.88	8.12	0.49	142.25	1.80	7391.92	22.94	5.73	0.07	44.38	0.72	279.43
Frailecillo	Control	7.24	0.98	0.02	35.35	0.74	1221.22	1.89	2.28	0.03	12.47	0.99	95.13
	Aves con petróleo interno	54.02	55.42	0.51	116.90	0.83	4359.36	28.56	7.61	0.17	34.80	0.66	399.12
Gaviota	Control	3.47	7.35	0.16	28.52	2.18	1462.61	17.13	2.14	0.54	5.95	0.99	185.51
	Aves con petróleo interno	1.69	10.51	0.07	20.25	0.46	1587.64	13.31	1.29	0.72	3.44	1.19	151.14

Tabla 27. Concentraciones medias (ppm p.s.) de los elementos químicos estudiados en riñón de aves que ingirieron petróleo y en aves control.

Especie	Categoría	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Control	27.78	10.33	0.39	56.72	1.41	1218.30	17.49	5.11	0.14	51.65	0.88	271.59
	Aves con petróleo interno	20.53	6.90	0.29	47.08	1.84	859.37	13.24	5.42	0.09	37.91	1.06	233.50
Arao	Control	45.88	29.26	0.43	66.09	2.36	981.88	19.06	5.79	0.11	67.84	0.77	430.43
	Aves con petróleo interno	38.81	18.58	0.55	79.64	2.92	1241.14	26.69	5.69	0.22	72.79	1.10	438.67
Frailecillo	Control	4.91	8.17	0.03	15.81	1.15	919.96	2.60	1.96	0.00	22.25	1.25	102.97
	Aves con petróleo interno	24.51	149.79	0.68	39.26	2.47	706.18	10.32	4.59	3.71	55.72	0.69	264.86
Gaviota	Control	4.83	62.85	0.31	38.16	2.29	817.72	17.41	2.00	3.41	12.15	1.54	264.22
	Aves con petróleo interno	1.37	99.31	0.13	35.75	1.50	472.73	13.71	1.50	6.51	6.96	1.34	229.15

Se realizó la prueba no paramétrica de U-Mann-Whitney para comparar los niveles de elementos químicos analizados (normalizados por la técnica Box-Cox) en los grupos de alca y arao, por tener mayor número de individuos. Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) tal como se aprecia en la Tabla 28 y en la Tabla 29. Gráficamente, estos resultados se ven reflejados en las representaciones de la Figura 72.

Tabla 28. Resultados de la comparación en hígado de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados en aves que ingirieron petróleo y en aves control.

Especie	Parámetros estadísticos	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	U-Mann-Whitney	192	116	201	197	191	153	182	171	198	206	133	217
	p-valor	0.56	0.03*	0.69	0.63	0.54	0.17	0.43	0.31	0.64	0.77	0.07	0.95
Arao	U-Mann-Whitney	136	177	186	228	208	171	218	207	228	160	209	220
	p-valor	0.04*	0.26	0.35	0.97	0.64	0.21	0.80	0.62	0.96	0.13	0.65	0.83
Gaviota	U-Mann-Whitney	15	11	5	11	12	14	13	10	16	8	8	14
	p-valor	0.885	0.456	0.088	0.456	0.555	0.769	0.659	0.368	1.000	0.225	0.225	0.769
Frailecillo	U-Mann-Whitney	1	0	0	0	2	3	1	0	1	1	0	0
	p-valor	0.500	0.250	0.250	0.250	0.750	1.000	0.500	0.250	0.500	0.500	0.250	0.250

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Tabla 29. Resultados de la comparación en riñón de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados en aves que ingirieron petróleo y en aves control.

Especie	Parámetros estadísticos	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	U-Mann-Whitney	185	193	155	172	220	169	154	221	153	136	188	177
	p-valor	0.43	0.53	0.16	0.29	0.94	0.26	0.16	0.95	0.14	0.07	0.46	0.34
Arao	U-Mann-Whitney	97	199	225	161	162	159	106	204	169	181	126	159
	p-valor	0.01*	0.57	1.00	0.16	0.17	0.15	0.01*	0.65	0.22	0.34	0.03*	0.15
Gaviota	U-Mann-Whitney	13	6	4	12	14	8	12	9	14	8	8	15
	p-valor	0.811	0.161	0.077	0.692	0.937	0.287	0.692	0.371	0.937	0.287	0.287	1.000
Frailecillo	U-Mann-Whitney	0	0	0	1	3	2	0	0	0	2	0	0
	p-valor	0.250	0.250	0.250	0.500	1.000	0.750	0.250	0.250	0.250	0.750	0.250	0.250

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Según estos resultados, en la especie alca, sólo para el cadmio en hígado se pudo establecer una diferencia significativa ($p < 0.05$), siendo más elevados los niveles en aves con petróleo interno. En los araos, las concentraciones de arsénico en hígado fueron más elevadas, mientras que en riñón se apreciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) tanto para arsénico como para manganeso y vanadio; en todos los casos los niveles de las aves con petróleo interno fueron más elevados.

A través de estos resultados, se pone de manifiesto que los metales contenidos en el petróleo del *Prestige*, podrían haber incrementado las concentraciones en las aves petroleadas, sobre todo el arsénico, manganeso y vanadio, debido a los altos niveles de estos elementos observados en las aves.

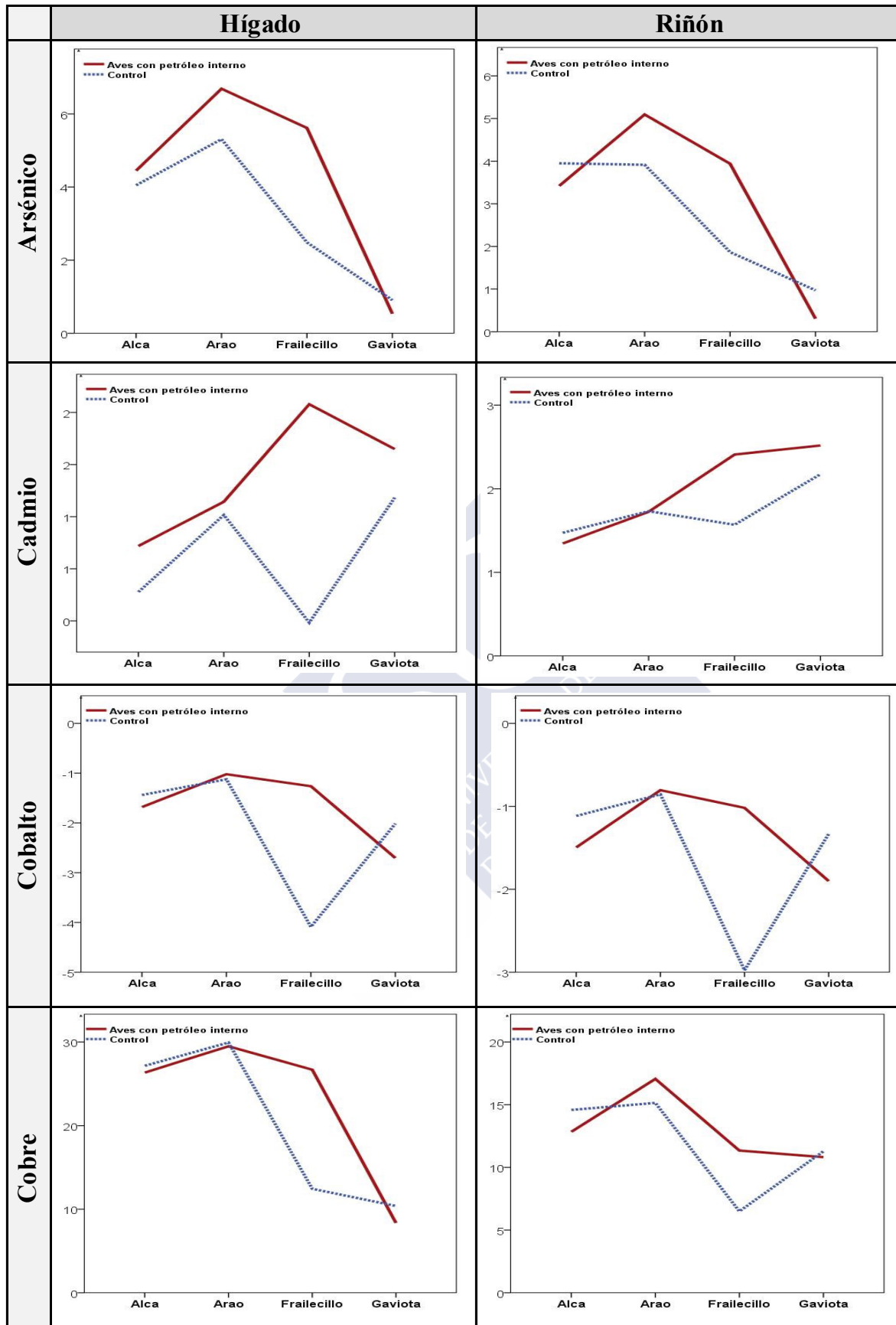


Figura 72. Representaciones gráficas de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas con presencia y ausencia de fuel en aparato digestivo. Datos normalizados con la técnica Box-Cox

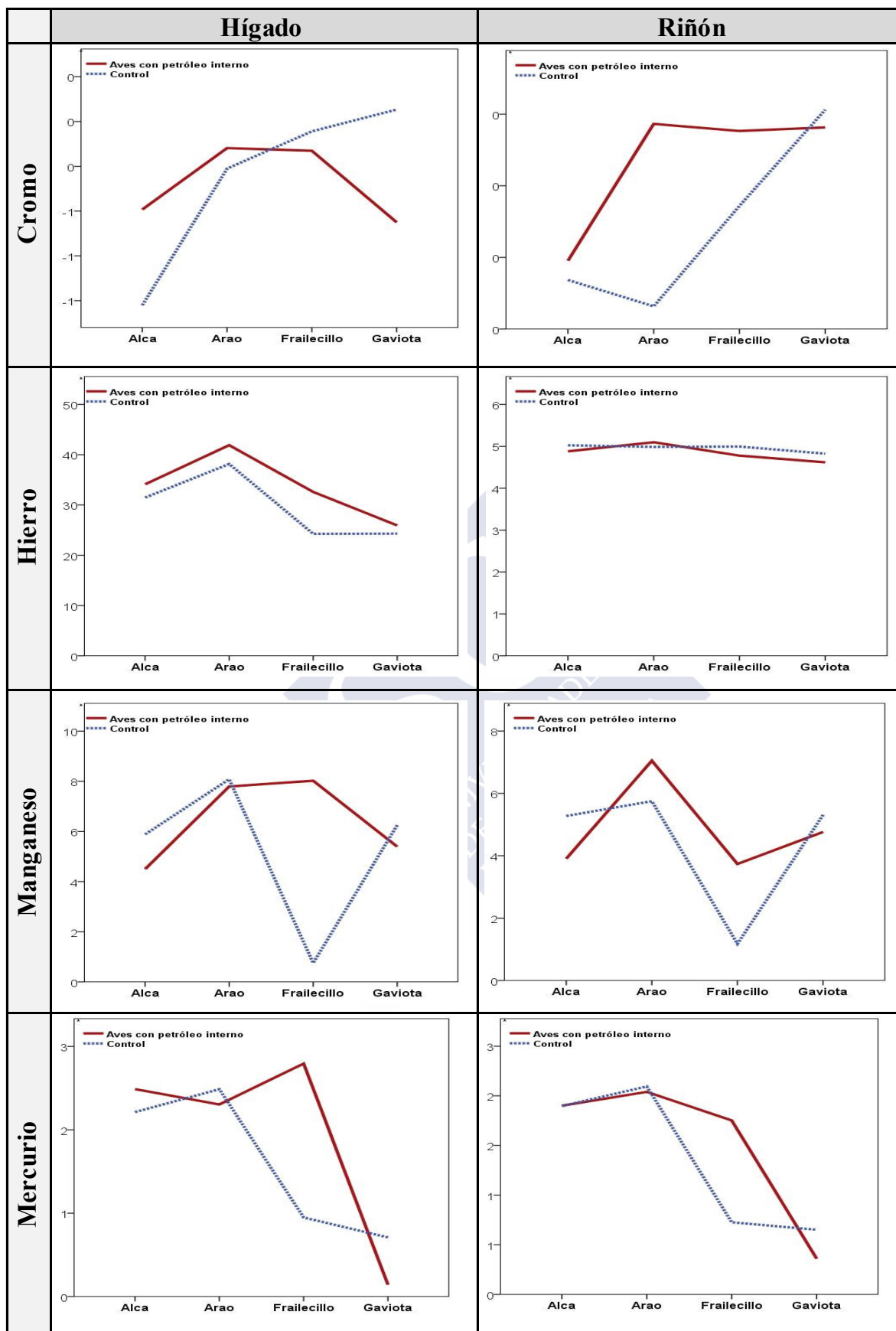


Figura 72 (cont.). Representaciones gráficas de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas con presencia y ausencia de fuel en aparato digestivo. Datos normalizados con la técnica Box-Cox.

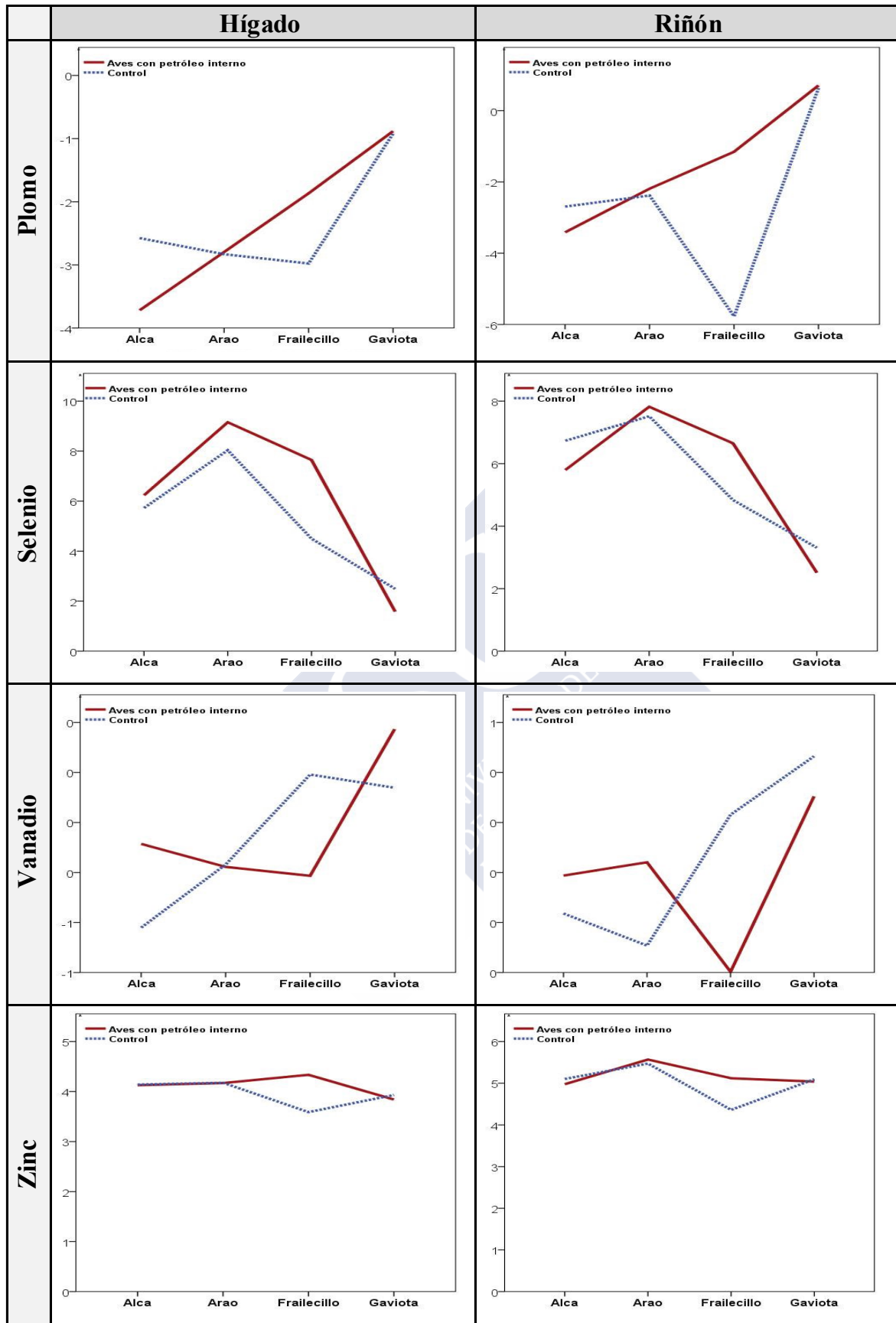


Figura 72 (cont.). Representaciones gráficas de los niveles de los elementos químicos estudiados en aves marinas con presencia y ausencia de fuel en aparato digestivo. Datos normalizados con la técnica Box-Cox.

Son escasos los estudios que relacionan la ingestión de petróleo y la concentración de metales pesados en aves marinas. La ingestión de petróleo en araos hallados muertos o moribundos en las costas de Inglaterra, Alemania y Bélgica, fue observada por Wenzel y Adelung (1996), pero en este caso no había habido ningún derrame de petróleo; se supuso que las aves habían ingerido el petróleo encontrado en el mar procedente de barcos o refinerías. También se recogieron en la Costa atlántica de América del Sur aves marinas, en especial pingüinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*), muertos como consecuencia de la contaminación del mar por petróleo que tenían también fuel dentro del aparato digestivo (García-Borboroglu *et al.*, 2006).

Otros estudios realizados en las costas de Newfoundland (Alaska) durante 15 años (1984-1999), confirmaron que el 62% de las aves muertas halladas en las costas presentaron petróleo interno (Wiese and Ryan, 2003). Por todo ello, se puede inferir que las aves tienen cierta atracción por el fuel debido a la apariencia que tiene y la confusión con peces por parte de estas o probablemente por su olor. En consecuencia, y de forma preventiva, durante los últimos años se han modificado las normas para evitar la contaminación marina por petróleo, dando sus primeros resultados en la protección de las aves marinas sobre todo en el norte de Europa (Camphuysen, 2010).

Wenzel y Adelung (1996), hacen mención a un estudio realizado por Köth (1990) en el que se evalúan los metales pesados en aves petroleadas y limpias, halladas en las costas de Alemania, destacando que no encontraron diferencias significativas entre los niveles de cadmio y mercurio entre ambos grupos; sin embargo, observaron que los niveles de zinc estaban incrementados en las aves petroleadas.

Otro de los escasos estudios realizados con respecto a los niveles de metales pesados en aves petroleadas, evaluó la presencia de vanadio en hígado y riñón de aves muertas por el vertido del *Erika*, sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas entre aves limpias y petroleadas, explicando que probablemente la absorción del vanadio del fuel oralmente no es muy eficaz (Kammerer *et al.*, 2004).

En todo caso, el estudio toxicológico tras un accidente con derrame de petróleo, permite determinar si los animales ya han tenido una exposición previa, como en el caso de las tortugas halladas muertas debido a la catástrofe de *Ixtoc I* en Texas en las que los niveles hallados de HAP's fueron muy altos, comparados con animales no expuestos, observando que aquellos hidrocarburos más difíciles de eliminar estaban en mayores concentraciones, por lo que tuvieron que tener una exposición crónica (Hall *et al.*, 1983).

6. ESTUDIO DE METALES PESADOS CON RESPECTO A LA FECHA DE RECOGIDA DE LAS AVES MARINAS

En la Tabla 30 se muestra la frecuencia observada de la recogida de las aves por fecha, en períodos quincenales. En la Tabla 31 y Tabla 32 se presentan los resultados de las determinaciones analíticas de metales pesados, efectuadas quincenalmente desde diciembre de 2002 hasta febrero de 2003, y en la Tabla 33 se muestran los resultados del análisis estadístico para dichos metales. Estos datos normalizados por la técnica Box-Cox se representaron en gráficos, donde se muestran las concentraciones medias unidas por líneas continuas tal como se puede observar en la Figura 73.

Tabla 30. Tabla de contingencia que muestra el número de aves recolectadas por quincenas entre diciembre de 2002 y febrero de 2003.

Especie	Diciembre		Enero		Febrero		Total
	1° Quin.	2° Quin.	1° Quin.	2° Quin.	1° Quin.	2° Quin.	
Alca	2	9	27	11	13	2	64
Arao	0	0	19	21	12	4	56
Gaviota	5	4	1	2	0	2	14
Frailecillo	0	1	2	1	4	0	8
Total	7	14	49	35	29	8	142

De acuerdo con los resultados y las representaciones gráficas, se observa una tendencia al incremento de la concentración de los elementos químicos en los órganos estudiados con respecto a la quincena de recolección de las aves para todos los elementos, con la excepción del vanadio que presenta una tendencia opuesta.

En muchos casos, los niveles máximos de concentración se observan durante la primera quincena de febrero, siendo muy significativo este incremento. Posteriormente, en la mayoría de los elementos estudiados, se aprecia un estancamiento de dichos niveles o un ligero descenso en estos.

Según el conjunto de estas observaciones, podría concluirse que existe una tendencia temporal al aumento de los niveles de todos los elementos químicos estudiados a excepción del vanadio.

Tabla 31. Concentraciones (ppm p.s.) de elementos químicos en hígado de acuerdo con la fecha de recepción de las aves marinas muertas.

Especie	Fecha por quincena	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn	
Alca	1° Quin.	Diciembre	5.60	2.18	0.18	93.98	0.16	2893.30	13.21	4.22	0.06	8.13	0.92	358.76
	2° Quin.		17.94	2.67	0.20	93.23	0.34	3030.03	1.82	5.13	0.01	15.35	1.09	199.56
	1° Quin.	Enero	22.04	2.15	0.34	91.67	0.86	3032.52	7.97	5.01	1.12	20.52	0.83	228.90
	2° Quin.		57.19	3.53	0.26	166.92	2.83	4388.07	22.23	9.43	0.08	30.77	0.52	331.23
	1° Quin.	Febrero	42.13	2.69	0.28	151.57	1.95	4865.60	23.39	7.87	0.07	26.15	0.62	346.40
	2° Quin.		31.82	5.30	0.36	164.43	1.79	5957.54	37.19	11.49	0.07	34.81	0.83	431.13
Arao	1° Quin.	Diciembre												
	2° Quin.													
	1° Quin.	Enero	60.11	4.20	0.32	145.00	2.26	7629.01	21.42	5.39	0.05	42.82	0.71	280.08
	2° Quin.		63.31	3.71	0.38	135.36	1.31	6461.79	23.13	5.33	0.08	44.24	0.61	259.84
	1° Quin.	Febrero	89.60	19.47	0.89	156.88	1.30	7769.32	26.85	6.78	0.10	45.30	0.92	306.23
	2° Quin.		81.92	10.88	0.45	122.04	3.07	4952.85	21.37	8.51	0.10	28.39	0.80	317.10
Frailecillo	1° Quin.	Diciembre												
	2° Quin.		3.56	2.99	0.06	68.04	0.63	1147.69	2.23	2.69	0.01	5.00	0.86	211.78
	1° Quin.	Enero	10.04	2.62	0.04	44.02	1.36	1622.92	1.56	3.82	0.08	13.55	0.82	136.53
	2° Quin.		109.26	133.48	0.23	101.32	0.30	752.61	20.14	9.75	0.29	23.42	0.35	268.94
	1° Quin.	Febrero	63.12	61.80	0.80	149.06	0.73	6647.64	44.08	8.86	0.18	50.14	0.70	533.81
	2° Quin.													
Gaviota	1° Quin.	Diciembre	2.10	11.46	0.16	29.73	0.63	1061.80	14.64	2.05	0.18	5.89	1.22	179.76
	2° Quin.		2.02	5.70	0.12	22.63	0.55	841.40	14.97	2.12	0.84	4.62	0.98	121.60
	1° Quin.	Enero	0.89	1.90	0.04	13.43	0.73	907.90	20.21	2.73	0.14	4.47	0.89	301.68
	2° Quin.		1.61	10.86	0.15	33.33	5.56	2998.79	20.84	1.40	0.45	3.74	1.19	247.56
	1° Quin.	Febrero												
	2° Quin.		10.28	4.34	0.17	27.63	4.09	2635.78	16.73	1.57	1.41	7.96	0.56	156.03

Tabla 32. Concentraciones (ppm p.s.) de elementos químicos en riñón de acuerdo con la fecha de recepción de las aves marinas muertas.

Especie	Fecha por quincena		As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	1° Quin.	Diciembre	1.77	3.03	0.41	34.41	1.09	510.86	15.52	2.79	0.02	19.33	0.95	206.19
	2° Quin.		9.22	4.98	0.11	27.37	0.32	656.77	4.04	3.43	0.01	21.70	1.37	139.60
	1° Quin.	Enero	17.34	6.28	0.20	45.04	1.65	869.54	8.02	4.86	0.11	35.90	1.19	232.39
	2° Quin.		33.50	10.08	0.42	62.95	3.30	988.44	25.98	7.95	0.12	61.29	0.89	300.80
	1° Quin.	Febrero	32.69	8.78	0.56	61.30	2.14	1182.60	20.96	5.72	0.13	43.64	0.73	279.98
	2° Quin.		11.80	11.83	0.24	34.88	0.28	607.14	19.59	7.38	0.02	45.57	0.43	178.50
Arao	1° Quin.	Diciembre												
	2° Quin.													
	1° Quin.	Enero	34.34	11.35	0.69	96.59	3.46	1375.44	28.56	5.02	0.37	70.96	1.25	500.38
	2° Quin.		32.27	11.71	0.37	69.39	2.50	1118.52	24.32	5.35	0.08	74.91	0.86	364.75
	1° Quin.	Febrero	45.97	39.26	0.58	65.29	1.61	1138.03	24.68	7.07	0.14	65.72	1.09	419.54
	2° Quin.		92.36	58.81	0.48	58.56	4.72	882.36	16.73	7.14	0.18	77.38	0.80	565.59
Frailecillo	1° Quin.	Diciembre												
	2° Quin.		5.58	8.28	0.06	30.28	2.77	648.09	3.79	2.21	0.05	11.12	1.07	180.52
	1° Quin.	Enero	6.00	11.87	0.06	20.17	1.38	635.04	2.97	2.65	0.11	18.26	1.06	118.80
	2° Quin.		49.03	190.06	2.86	9.50	9.50	634.78	12.37	5.42	25.06	52.34	0.57	231.25
	1° Quin.	Febrero	27.47	208.66	0.45	52.63	0.86	827.56	13.18	5.30	0.16	78.07	0.58	326.91
	2° Quin.													
Gaviota	1° Quin.	Diciembre	1.42	90.70	0.21	27.36	0.98	506.37	12.44	1.49	0.58	7.80	1.46	210.18
	2° Quin.		1.99	45.53	0.23	24.41	2.24	526.03	18.94	2.13	6.92	9.27	1.51	181.20
	1° Quin.	Enero	0.85	8.89	0.03	25.48	9.43	646.50	11.39	2.44	0.94	8.00	1.49	163.64
	2° Quin.		1.76	69.38	0.29	53.09	1.34	1200.60	18.44	1.69	1.34	8.10	1.37	302.46
	1° Quin.	Febrero												
	2° Quin.		17.20	116.91	0.58	75.04	1.20	1209.02	20.75	2.10	10.02	24.94	1.65	497.79

Tabla 33. Análisis estadístico de las concentraciones de elementos químicos en hígado y riñón de las diferentes especies de aves marinas.

Especie	Parámetros estadísticos	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Hígado													
Alca	Prueba de Kruskal-Wallis	15.40	8.91	11.17	15.46	9.62	12.57	31.51	22.51	15.14	19.54	18.45	18.42
	p-valor	0.01*	0.11	0.05*	0.01*	0.09	0.03*	0.00*	0.00*	0.01*	0.00*	0.00*	0.00*
Arao	Prueba de Kruskal-Wallis	2.27	8.49	7.61	1.76	0.44	1.30	2.63	9.13	4.38	3.49	3.19	1.04
	p-valor	0.52	0.04*	0.05	0.62	0.93	0.73	0.45	0.03*	0.22	0.32	0.36	0.79
Riñón													
Alca	Prueba de Kruskal-Wallis	15.45	16.76	23.96	18.55	19.92	12.58	32.12	22.30	19.60	21.02	15.61	17.66
	p-valor	0.01*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.03*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.01*	0.00*
Arao	Prueba de Kruskal-Wallis	3.62	8.10	6.00	3.88	2.45	2.47	7.07	9.23	15.11	0.54	8.58	5.73
	p-valor	0.31	0.04*	0.11	0.27	0.48	0.48	0.07	0.03*	0.00*	0.91	0.04*	0.13

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En las pruebas estadísticas en hígado de las alcas, se apreciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) para las concentraciones de todos los elementos a excepción del cadmio y el cromo. En riñón las diferencias se observaron para todos los elementos. En los araos, los metales tóxicos, cadmio y mercurio, en hígado y riñón presentaron diferencias significativas, además del plomo y vanadio en riñón.

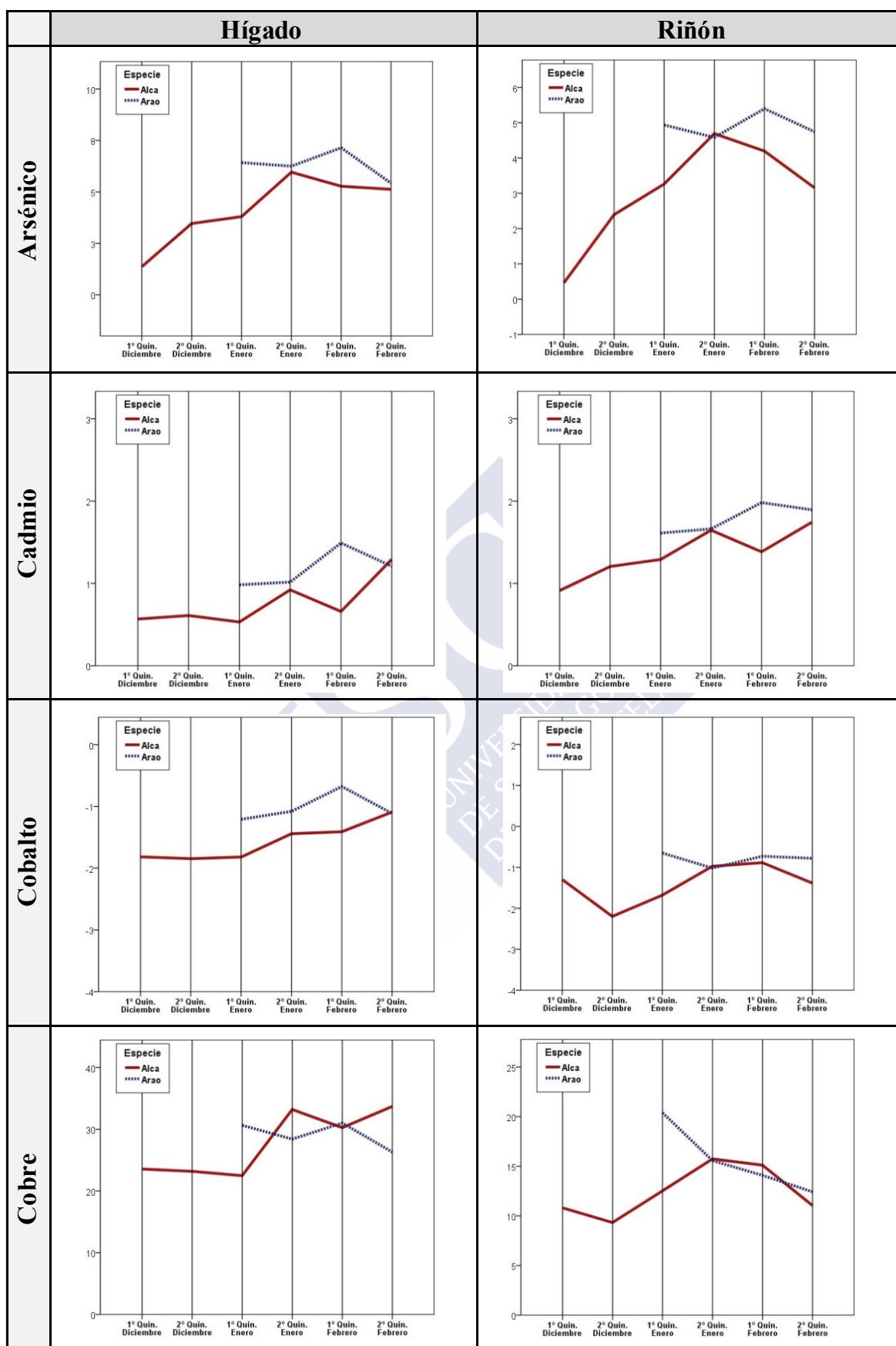


Figura 73. Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados por quincenas en alca y arao.

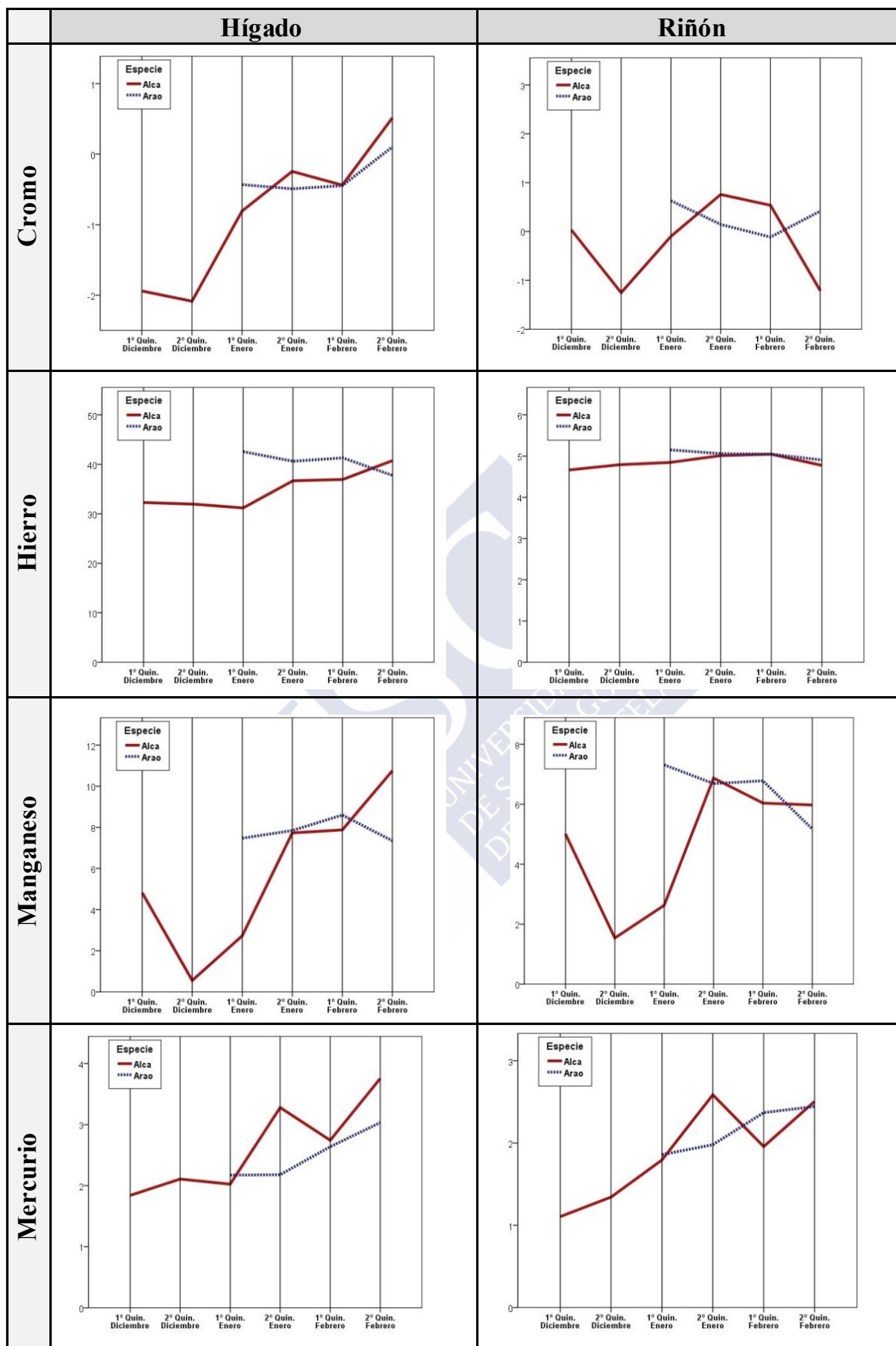


Figura 73 (cont.). Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados por quincenas en alca y arao.

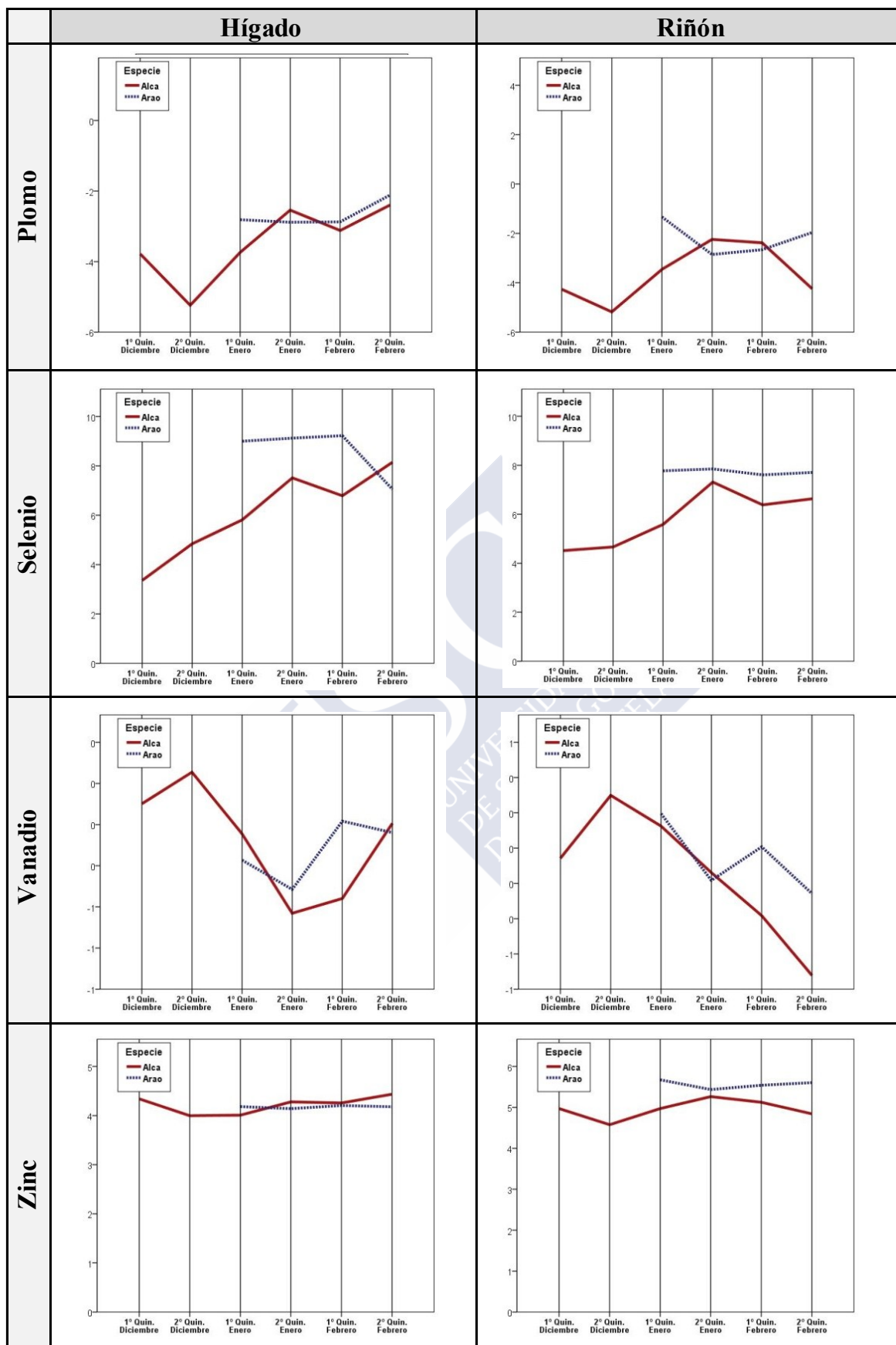


Figura 73 (cont.). Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos químicos estudiados por quincenas en alca y arao.

Estos hechos, podrían establecer una relación entre el momento en que se halló a las aves muertas y los niveles de metales pesados aportados por el fuel. Esta tendencia se aprecia con el incremento de los niveles del cromo en aves marinas a partir de la primera semana de enero de 2003 y su pico durante la segunda semana de febrero de 2003. El plomo también muestra un comportamiento similar, alcanzando niveles elevados durante la segunda quincena de enero. Estas observaciones coinciden con el mayor número de aves con fuel interno durante ese período, así como también la mayor cantidad de aves que presentaron necrosis hepática y renal tras el estudio histopatológico.

Con relación al vanadio, el fuel presentó concentraciones muy elevadas para este metal, mientras que en las aves estudiadas, se observó un incremento de los niveles de este durante diciembre de 2002, registrándose una caída de los niveles las semanas siguientes. Este hecho podría explicarse por la limpieza del fuel del mar, lo que impidió que las aves se contaminaran de manera aguda, además de por la baja absorción del vanadio por vía oral.

Con esto se podría concluir que las aves sufrieron una intoxicación de metales pesados aportados por el fuel al ingerirlo durante los meses de enero y febrero, casi tres meses después del accidente, siendo la presencia de los metales pesados del fuel un factor importante en su muerte.

Los vertidos de petróleo tienen diversos impactos y repercusiones sobre los sistemas marinos que van a depender de factores climáticos, volumen del derrame, tipo de vertido, proximidad a lugares con actividades sociales (ciudades, puertos), económicas (actividades pesqueras, turísticas) y ambientales (parques naturales) (**Tamis et al., 2012**).

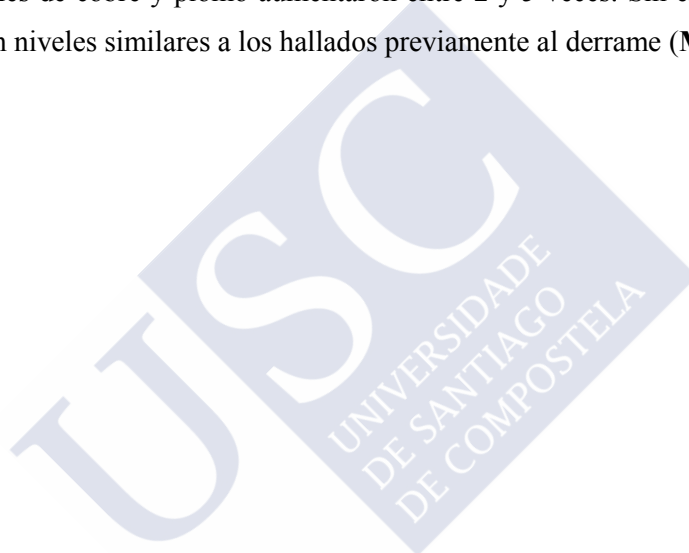
Entre las actividades *post*-derrame que se llevaron a cabo tras el vertido del Deepwater Horizon en el Golfo de México, estuvo la limpieza del agua utilizando medios manuales o químicos (usando Corexit 9500), sin embargo, estos últimos provocaron daños en la fauna marina ya afectada que agravaron el problema, tal como lo muestran estudios realizados en huevos de patos (**Finch et al., 2012**). En el caso específico del *Prestige*, la acción se abordó de forma inmediata para evitar la penetración del fuel en las rías gallegas; los habitantes y pescadores locales, y otros voluntarios, utilizaron todos los medios disponibles para la realización de las tareas de limpieza manual.

Según la industria energética petrolera, el impacto que provocan sus actividades sobre las aves marinas es mínimo, sin embargo, el mundo científico duda de que sea un daño menor el realizado por dichas industrias (**Burke et al., 2012**). Se hace necesario el compromiso de las autoridades para que de forma transparente se cuantifique el verdadero impacto de los vertidos sobre los organismos vivos. Además, se considera también muy conveniente la monitorización de los efectos toxicológicos a medio y largo plazo del vertido del *Prestige*.

El petróleo, al ser una sustancia compleja, tiene un comportamiento que va variando con el tiempo (**Shigenaka, 2011**), de ahí la importancia de hacer una evaluación temporal de la concentración de los elementos químicos contenidos y tratados en este trabajo.

En la evaluación de moluscos (*Mytilus edulis*) del Mar Báltico afectados por petróleo, los estudios de la citotoxicidad y genotoxicidad a corto plazo mostraron alteraciones de las estructuras celulares y nucleares, incluso 6 meses después del vertido (**Barsiene et al., 2012**).

En Galicia, se evaluaron las concentraciones de metales pesados (Pb, Cu, Zn y Cr) de las plumas de gaviotas patiamarillas y cormoranes afectados por el derrame del *Prestige*, comparándolas con niveles obtenidos previos al accidente. Los resultados indicaron que después de 6 meses del accidente, los niveles de cobre y plomo aumentaron entre 2 y 5 veces. Sin embargo, después de 3 años, se observaron niveles similares a los hallados previamente al derrame (**Moreno et al., 2011**).



7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO SEGÚN EL SEXO DE LAS AVES MARINAS.

En la Tabla 34 se expone el número de muestras de aves de acuerdo con el sexo. Las aves con más individuos, tanto machos como hembras, son el alca y el arao, por lo que el estudio estadístico se centró en estas dos especies. Las concentraciones de los elementos químicos estudiados se muestran en la Tabla 35 y Tabla 36 para hígado y riñón, respectivamente.

Tabla 34. Aves marinas estudiadas de acuerdo con la especie y el sexo.

Especie	Sexo de las aves		Total
	Macho	Hembra	
Alca	14	44	58
Arao	19	35	54
Gaviota	1	9	10
Frailecillo	2	4	6
Total	36	92	142

Tabla 35. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos evaluados en hígado de acuerdo con el sexo.

Especie	Sexo	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Macho	29.69	2.10	0.21	119.78	1.26	3692.01	17.47	6.45	0.20	24.02	0.70	282.56
	Hembra	35.42	2.81	0.32	123.34	1.53	3781.28	13.85	6.75	0.66	23.51	0.75	281.43
Arao	Macho	82.23	6.19	0.35	160.71	3.37	8978.06	22.80	6.26	0.06	41.33	0.78	301.66
	Hembra	64.65	8.88	0.55	133.09	0.92	5875.33	23.44	5.55	0.07	42.61	0.71	272.45
Frailecillo	Macho	58.25	67.23	0.13	68.33	0.52	986.91	11.02	6.02	0.16	17.95	0.67	182.04
	Hembra	63.12	61.80	0.80	149.06	0.73	6647.64	44.08	8.86	0.18	50.14	0.70	533.81
Gaviota	Macho	1.80	7.53	0.09	25.24	0.46	782.20	13.21	2.35	1.75	4.43	1.31	133.25
	Hembra	3.80	7.34	0.14	28.30	2.54	1638.64	14.26	1.65	0.52	5.30	1.00	192.69

Tabla 36. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos evaluados en riñón de acuerdo con el sexo.

Especie	Sexo	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Macho	21.00	6.62	0.37	41.48	1.03	810.68	13.42	5.35	0.10	41.62	0.81	219.26
	Hembra	23.77	7.82	0.30	52.65	2.22	968.19	14.68	5.61	0.11	41.69	1.07	254.61
Arao	Macho	53.82	23.88	0.65	82.41	4.58	1414.87	24.52	5.95	0.24	82.54	1.24	455.37
	Hembra	34.12	19.39	0.48	75.23	1.98	1096.84	26.06	5.56	0.19	66.60	0.96	436.11
Frailecillo	Macho	26.97	99.12	1.44	12.66	5.33	777.37	7.48	3.69	12.53	37.30	0.91	167.11
	Hembra	27.47	208.66	0.45	52.63	0.86	827.56	13.18	5.30	0.16	78.07	0.58	326.91
Gaviota	Macho	1.40	68.12	0.14	24.31	2.04	446.16	13.46	2.28	18.37	9.36	1.59	180.65
	Hembra	4.97	74.99	0.29	38.62	2.14	839.52	14.56	1.79	2.87	11.65	1.49	273.50

Se realizó la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney (Tabla 37) en los grupos de alcas y de araos para comparar los niveles de los elementos químicos entre hembras y machos, obteniendo sólo una diferencia significativa ($p < 0.05$) en el caso del alca para el vanadio en riñón, a favor de las hembras. En araos sólo se apreciaron diferencias significativas en cromo y hierro para el hígado, y en cromo para el riñón, siendo en todos los casos mayores los niveles encontrados en machos que en hembras. Estos resultados se pueden observar gráficamente en la Figura 74.

Tabla 37. Análisis estadístico de los niveles de elementos químicos evaluados de acuerdo con el sexo de las aves, en hígado y riñón.

Especie	Prueba estadística	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Hígado													
Alca	U-Mann-Whitney	299	204	272	299	246	273	254	300	231	298	270	292
	p-valor	0.97	0.07	0.59	0.97	0.31	0.60	0.38	0.99	0.19	0.96	0.57	0.87
Arao	U-Mann-Whitney	326	310	238	299	173	209	305	301	315.5	314	266	279
	p-valor	0.91	0.68	0.09	0.54	0.00*	0.03*	0.62	0.57	0.76	0.74	0.23	0.33
Riñón													
Alca	U-Mann-Whitney	303	271	307	267	205	296	306	293	270.5	299	182	268
	p-valor	0.93	0.50	0.99	0.46	0.06	0.83	0.97	0.79	0.49	0.87	0.02*	0.47
Arao	U-Mann-Whitney	288	266	316	294	210	226	291	319	279	248	227	317
	p-valor	0.52	0.29	0.90	0.59	0.04*	0.07	0.55	0.94	0.41	0.16	0.07	0.91

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

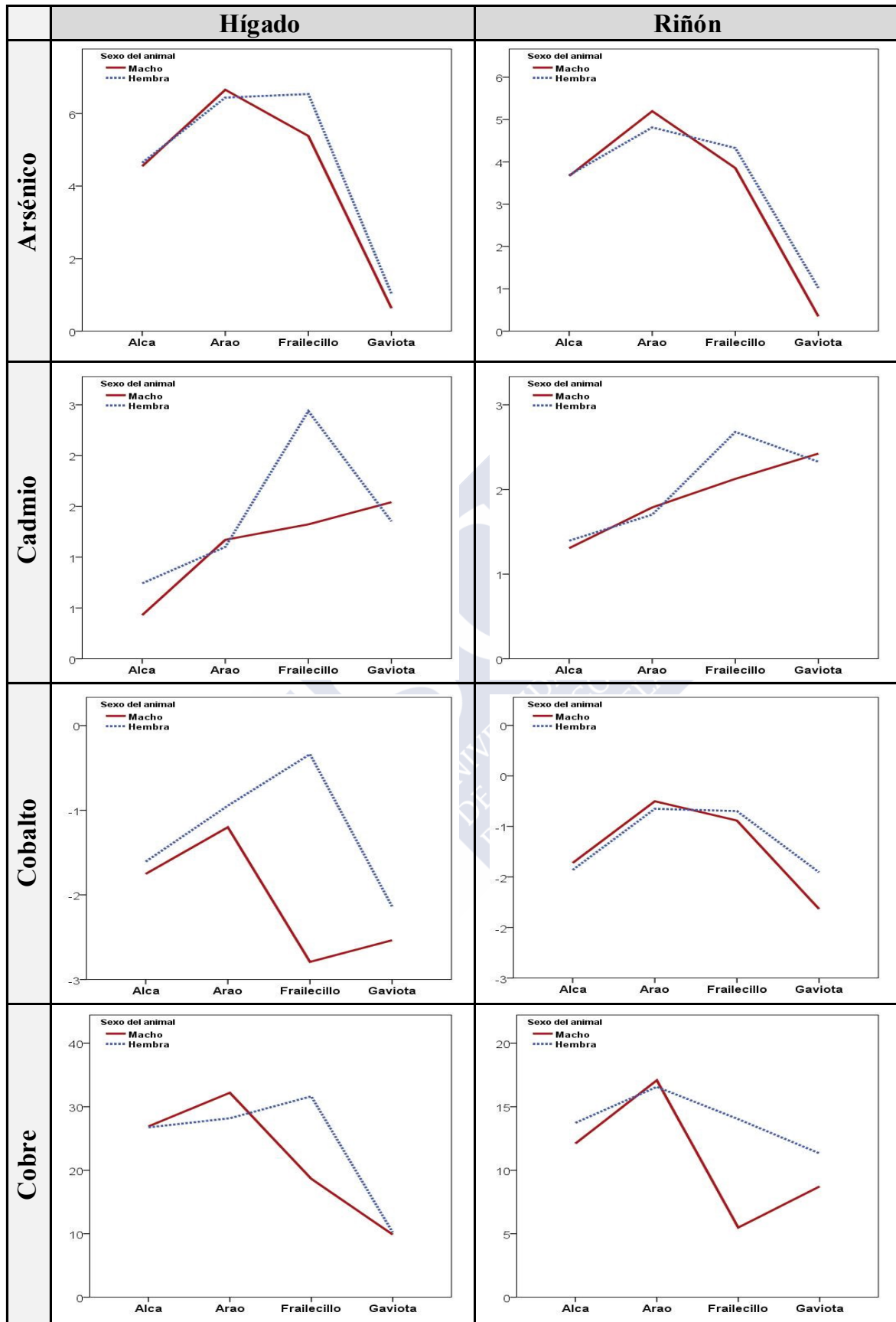


Figura 74. Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos estudiados en aves marinas de acuerdo con el sexo.

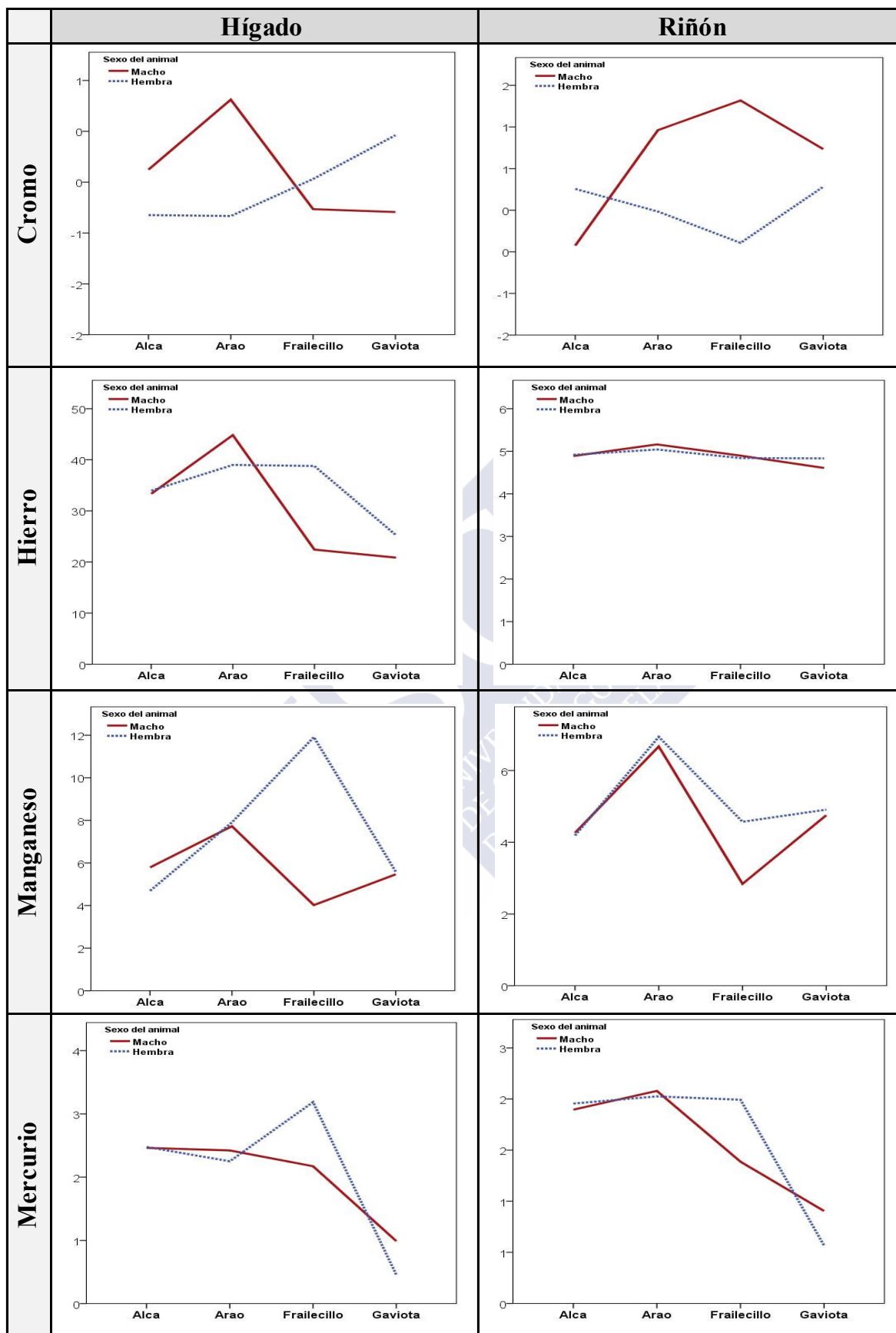


Figura 74 (cont.). Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos estudiados en aves marinas de acuerdo con el sexo.

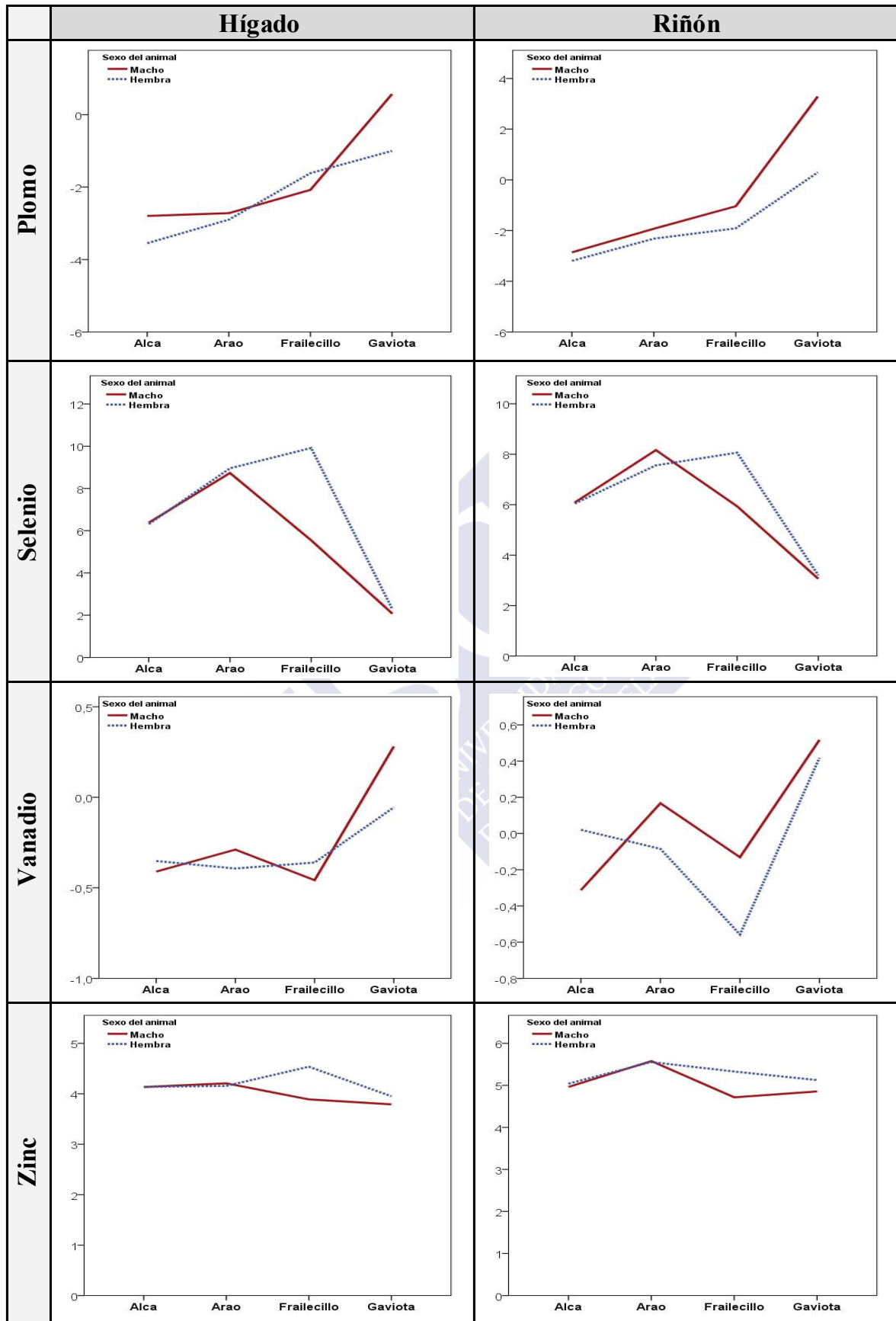


Figura 74 (cont.). Representaciones gráficas de las concentraciones medias de los elementos estudiados en aves marinas de acuerdo con el sexo.

En un estudio realizado en New Jersey (EE.UU.) se encontró que en tres especies de aves, los niveles de metales pesados eran más elevados en machos que en hembras, (**Gochfeld and Burger, 1987**). Esta misma autora, en una revisión de varias publicaciones observó resultados contradictorios, sin embargo, fueron más numerosos aquellos que mostraban que las hembras tenían niveles inferiores de ciertos metales pesados, que podrían explicarse porque las hembras eliminan elementos tóxicos a través de los huevos (**Burger, 2007**). En mamíferos esta eliminación se realiza a través del feto y la lactación, por ello, se sugiere mencionar el sexo en los análisis estadísticos para verificar la diferencia entre ellos (**Burger et al., 2007a**).

Otros autores que realizaron estudios en Groenlandia no observaron diferencias relacionadas con el sexo de las aves al determinar los niveles de cadmio, zinc, mercurio y selenio (**Overgaardnielsen and Runedietz, 1989**).

Se ha observado que las aves afectadas por el fuel que sobreviven a la contaminación después de los dos primeros años, tienen problemas crónicos en la actividad reproductora (**Briggs et al., 1997; Briggs et al., 1996**). Muchos de los metales pesados: cobre, zinc, hierro y cadmio, que se encuentran en el petróleo, se reflejan en las elevadas concentraciones encontradas en aves marinas, tal como se observó en animales provenientes de la zona de la Bretaña francesa después de la catástrofe del *Erika*. Sin embargo, en zonas que no se han visto afectadas por catástrofes de petroleros, también pueden presentarse niveles altos de metales pesados y PCBs, probablemente de origen antropogénico (**Bouquegneau et al., 1996**).

En el presente estudio, el dato analítico más relevante fue la mayor concentración de cromo estadísticamente significativa, en hígado y riñón de araos, en los machos con respecto de las hembras. Estos resultados contradicen otros estudios en búhos (*Athene noctua*) en los cuales no han observado diferencias entre sexos para este metal (**Zaccaroni et al., 2003**). Considerando el elevado número de animales en ambos estudios solamente podríamos explicar estas diferencias por la etología diferente entre las aves marinas y terrestres. En el presente estudio, el fuel del *Prestige* contenía elevadas concentraciones de cromo y la mayor concentración en los araos macho podría suponer diferencias metabólicas para este metal relacionadas con el sexo.

Por otra parte, considerando el elevado número de ejemplares de la especie alca analizados en este estudio, se observa que existe una influencia del sexo en la acumulación de vanadio en el riñón de forma significativa en hembras, independientemente de que esta especie haya consumido el fuel del derrame, dado que no se mostraron esas diferencias significativas entre las aves que ingirieron fuel y las control (Tabla 29). En este sentido no es sorprendente que los mayores niveles de vanadio se hayan observado en riñón, puesto que su principal vía de excreción es la renal (**Klaassen et al., 2008**). Como resultados novedosos del presente estudio, se puede concluir que en araos y alcas existen diferencias en la acumulación de cromo y vanadio, respectivamente, dependientes del sexo.

8. NIVELES DE ELEMENTOS INORGÁNICOS ESTUDIADOS EN AVES MARINAS Y SU RELACIÓN CON LA PRESENCIA Y AUSENCIA DE PARÁSITOS

Las aves marinas estudiadas en este trabajo presentaron una mayor parasitación en la especie alca a nivel de esófago y proventrículo, de ascáridos identificados como *Contracaecum rudolphii* (ver resultados de Anatomía Patológica). De las 56 aves disponibles para el estudio toxicológico hubo 31 aves parasitadas (positivos), tal como se muestra en la Tabla 38. Así mismo cabe destacar el mayor porcentaje de parasitación en hembras en comparación con los machos.

Tabla 38. Especies de aves y parasitación interna

Especies Sexo	Parasitosis interna		Total
	Negativo	Positivo	
Alca			
Macho	4	9	56
Hembra	21	22	
Arao			
Macho	19	0	54
Hembra	32	3	
Gaviota			
Macho	1	0	10
Hembra	9	0	
Frailecillo			
Macho	1	1	6
Hembra	4	0	
Total	91	35	126

Las otras especies de aves no fueron consideradas para el estudio estadístico toxicológico en relación a la parasitación debido al escaso número de individuos, sin embargo, en la Tabla 39 y en la Tabla 40 se muestran las concentraciones de los elementos químicos para todas las especies.

Tabla 39. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos evaluados en hígado de acuerdo con la presencia o ausencia de parásitos.

Especie	Categoría	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	No parasitados	32.75	2.47	0.31	112.76	1.01	3357.31	11.21	5.64	0.82	21.34	0.82	253.14
	Parasitados	29.89	2.96	0.26	129.13	1.83	4239.85	17.38	7.81	0.06	24.74	0.71	309.66
Arao	No parasitados	69.36	7.95	0.47	142.99	1.83	7084.02	23.32	5.91	0.07	42.91	0.73	283.82
	Parasitados	66.15	4.47	0.48	130.00	0.44	6079.56	21.48	5.42	0.09	41.89	0.49	226.19
Frailecillo	No parasitados	54.02	55.42	0.51	116.90	0.83	4359.36	28.56	7.61	0.17	34.80	0.66	399.12
	Parasitados	7.24	0.98	0.02	35.35	0.74	1221.22	1.89	2.28	0.03	12.47	0.99	95.13
Gaviota	No parasitados	3.29	8.41	0.14	25.41	1.18	1364.29	16.00	1.90	0.48	5.51	1.00	172.90
	Parasitados	1.91	5.72	0.15	34.80	5.62	2240.08	18.19	2.30	1.15	4.86	1.23	209.64

Tabla 40. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos evaluados en riñón de acuerdo con la presencia o ausencia de parásitos.

Especie	Categoría	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	No parasitados	24.67	7.23	0.34	51.50	1.56	1012.38	12.47	4.86	0.07	40.28	1.18	236.30
	Parasitados	17.27	7.46	0.26	44.16	2.08	765.20	15.45	6.04	0.13	38.78	0.86	240.79
Arao	No parasitados	41.13	21.10	0.54	78.68	2.86	1214.25	25.34	5.67	0.21	73.18	1.06	442.79
	Parasitados	22.19	10.37	0.32	51.15	2.04	843.03	24.70	6.35	0.03	49.55	0.66	339.70
Frailecillo	No parasitados	24.51	149.79	0.68	39.26	2.47	706.18	10.32	4.59	3.71	55.72	0.69	264.86
	Parasitados	4.91	8.17	0.03	15.81	1.15	919.96	2.60	1.96	0.00	22.25	1.25	102.97
Gaviota	No parasitados	4.41	76.41	0.27	38.21	2.20	643.93	16.60	1.79	3.03	11.11	1.49	258.67
	Parasitados	1.96	42.96	0.28	34.26	1.59	1256.05	16.32	2.40	10.15	10.10	1.51	242.15

Según estos resultados, al realizar la prueba estadística de U-Mann Whitney, se obtuvieron los datos expuestos en la Tabla 41, apreciándose diferencias significativas en los siguientes casos:

- En hígado: Existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las alcas parasitadas y sin parasitar, de forma que las alcas parasitadas tienen niveles más elevados de mercurio y zinc que las aves sin parásitos.
- En riñón: Las diferencias significativas ($p < 0.05$) observadas entre las aves muestran que las alcas sin parásitos tienen niveles más elevados de vanadio que las aves parasitadas.

Tabla 41. Comparación entre los niveles de elementos químicos estudiados en *Alca torda* de acuerdo con la presencia o ausencia de parásitos.

Prueba estadística	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Hígado												
U-Mann-Whitney	406	362	355	409	442	375	369	313	398	432	427	339
p-valor	0.27	0.09	0.07	0.28	0.54	0.12	0.10	0.02*	0.21	0.45	0.41	0.04*
Riñón												
U-Mann-Whitney	472	482	483	470	480	375	420	399	440	489	282	485
p-valor	0.66	0.77	0.78	0.65	0.75	0.08	0.26	0.16	0.38	0.84	0.00*	0.80

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Estos resultados se representan en las gráficas de caja y bigotes para la especie alca (Figura 75).

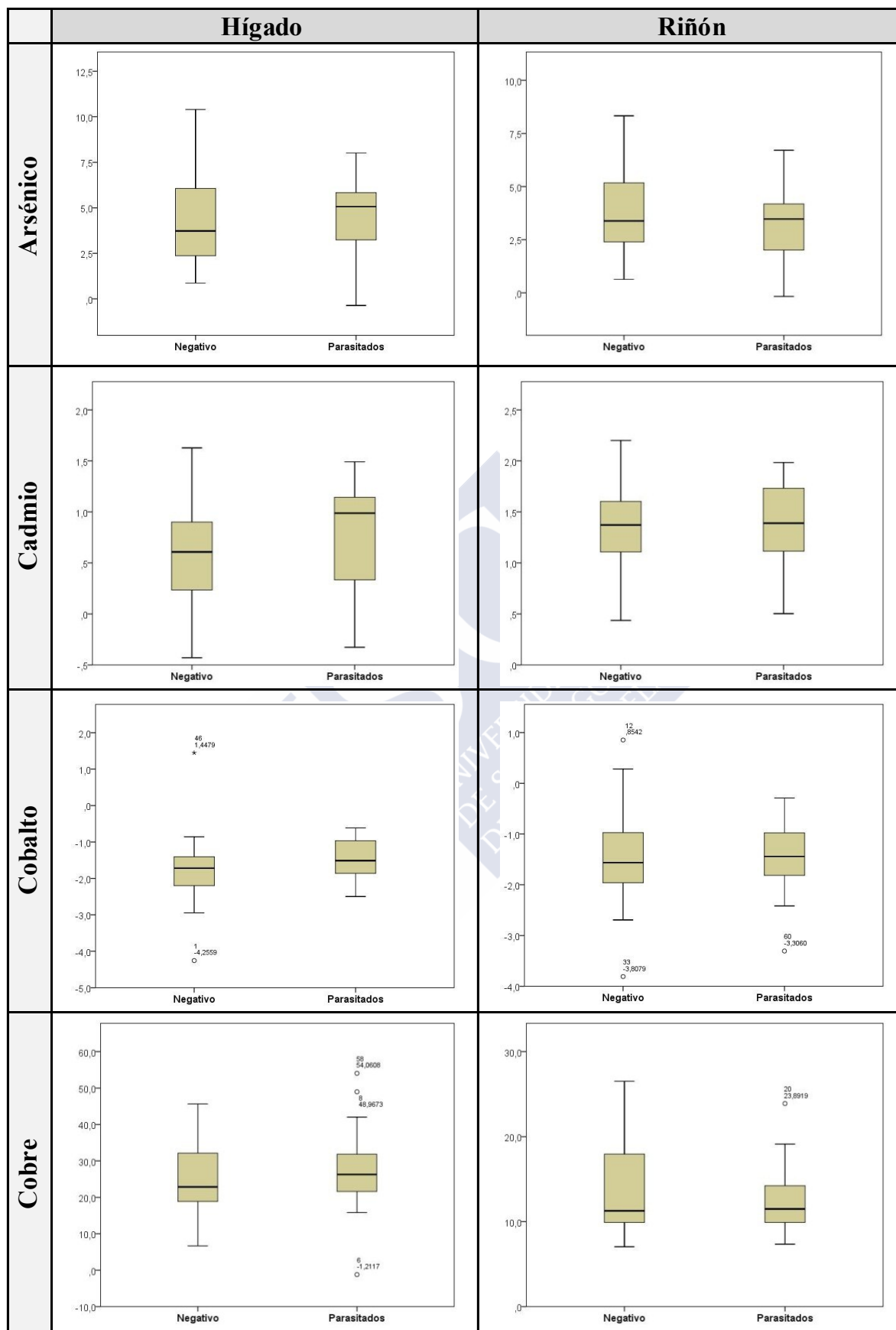


Figura 75. Representaciones gráficas de caja y bigotes de los niveles de elementos químicos con respecto a la presencia o ausencia de parásitos en alca.

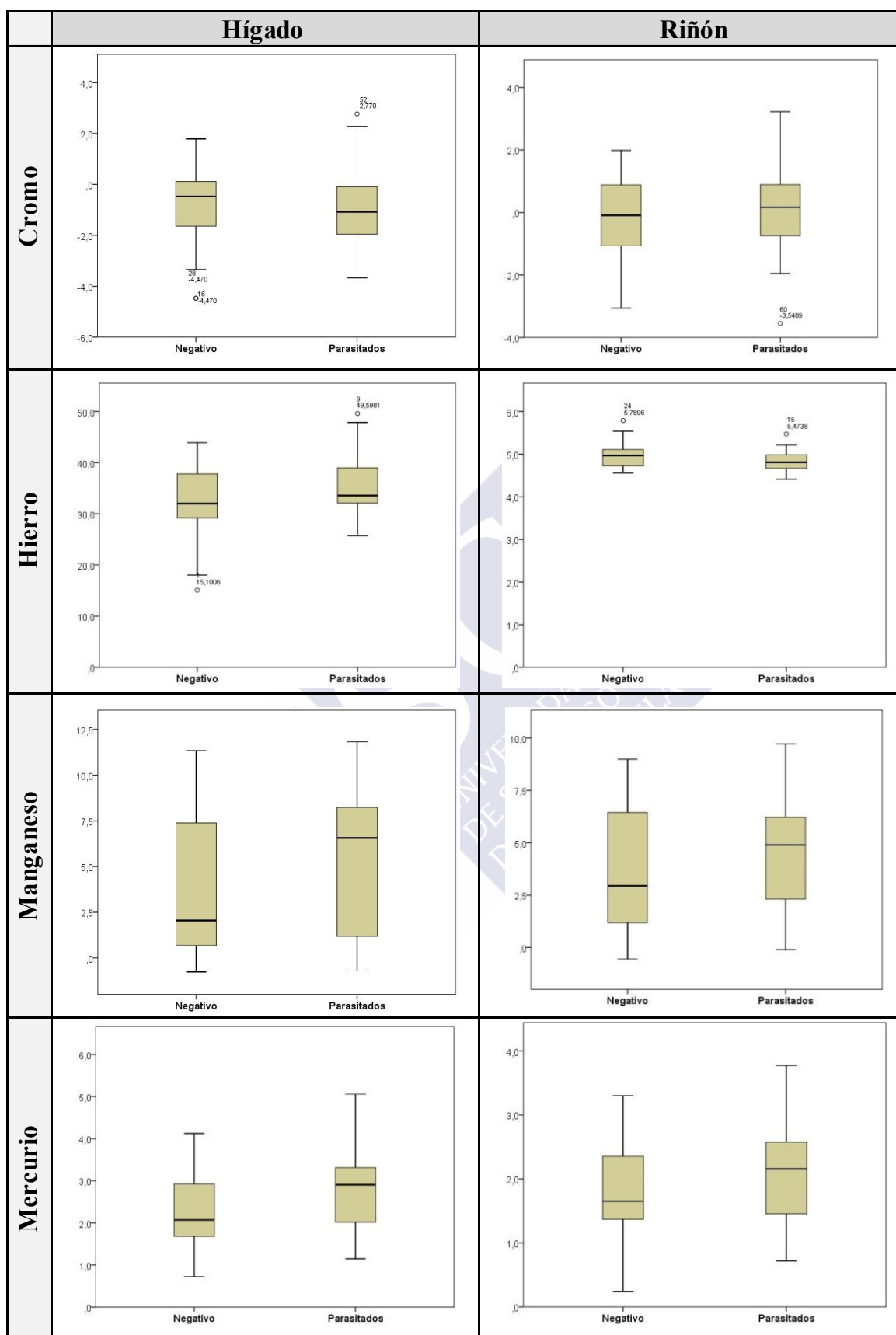


Figura 75 (cont.). Representaciones gráficas de caja y bigotes de los niveles de elementos químicos con respecto a la presencia o ausencia de parásitos en alca.

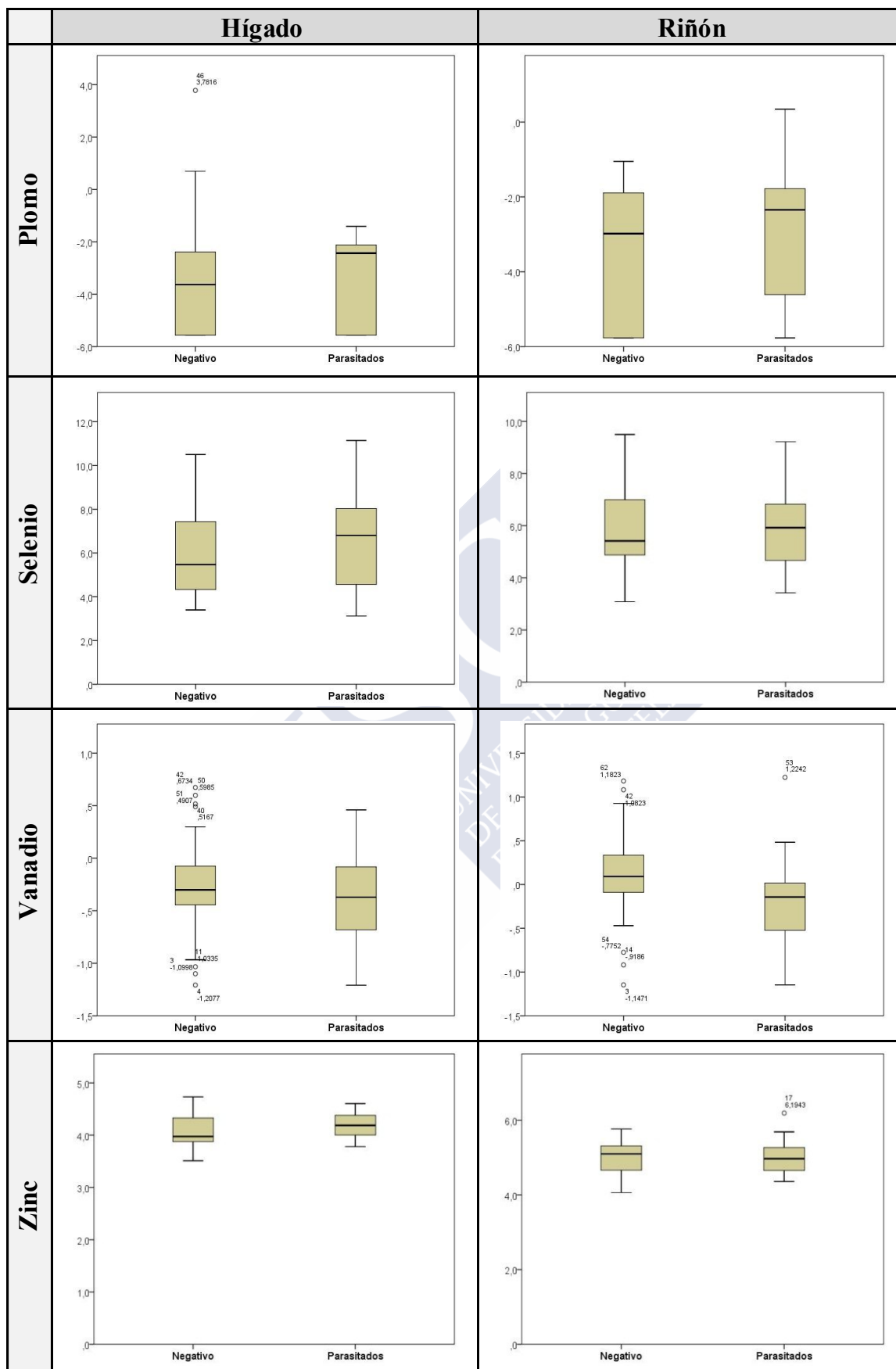


Figura 75 (cont.). Representaciones gráficas de caja y bigotes de los niveles de elementos químicos con respecto a la presencia o ausencia de parásitos en alca.

Según algunos estudios, los parásitos hallados en el intestino de los huéspedes tienen una capacidad de bioacumulación de metales pesados, teniendo incluso niveles más elevados que sus huéspedes. Este hecho pudo comprobarse en un trabajo realizado en la República Checa en relación con el plomo, donde se observaron niveles superiores en nematodos de la especie *Contracaecum rudolphii* que en los cormoranes parasitados; sin embargo, no se observó la misma tendencia al considerar el cadmio (Barus *et al.*, 2001).

Otro estudio que relaciona metales pesados y parasitosis, mostró que el número de nematodos estaba correlacionado positivamente con el nivel de mercurio, observándose, asimismo, una disminución de la masa corporal y de la masa del bazo al incrementarse las concentraciones de mercurio (Eisler, 2010; Wayland *et al.*, 2001b). En el presente estudio, se puede apreciar esta misma tendencia para los resultados del mercurio en hígado, observándose, además, concentraciones superiores de zinc. Esto podría explicarse por la mayor acumulación de mercurio y zinc en los hospedadores paraténicos e intermediarios del parásito *Contracaecum*, justificando los mayores niveles de estos metales en las alcas parasitadas. Por el contrario, el riñón presentó concentraciones inferiores de vanadio en aquellas alcas parasitadas, siendo este uno de los principales componentes del fuel; este resultado podría sugerir un posible efecto protector por parte del nematodo *Contracaecum rudolphii* hacia su hospedador.

Considerando pues que la presencia de los parásitos guarda una relación inversa con respecto a los niveles de vanadio en alcas de una forma significativa, la influencia del sexo en la acumulación del vanadio a favor de las hembras de esta especie es todavía mayor si se considera que las hembras de alca presentaban una parasitación significativamente superior a los machos.

9. ANÁLISIS TOXICOLÓGICO EN RELACIÓN CON EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

9.1. Relación entre el estudio toxicológico y el estudio histopatológico en hígado.

Siendo el hígado uno de los órganos diana para los daños causados por los tóxicos contenidos en los derrames petroleros (Albers, 1991; Briggs *et al.*, 1997), durante la necropsia, se obtuvieron muestras de hígado, para su estudio histopatológico, de los animales que no presentaban signos macroscópicos de autólisis de los órganos internos, como consecuencia del tiempo transcurrido desde la muerte. El número de animales estudiados se detallan en la Tabla 42, y las concentraciones de los elementos químicos estudiados se incluyen en la Tabla 43.

Tabla 42. Aves marinas con necrosis hepática.

Especie	Necrosis hepática		Total
	Negativo	Positivo	
Alca	42	22	64
Arao	25	31	56
Gaviota	11	3	14
Frailecillo	5	3	8
Total	83	59	142

Tabla 43. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos obtenidos en las aves con y sin necrosis hepática.

Especie	Categoría	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Sin necrosis hepática	37.00	2.89	0.35	135.76	1.19	3872.32	16.27	6.93	0.74	24.03	0.71	300.93
	Aves con necrosis hepática	21.33	2.28	0.18	89.98	1.68	3480.64	9.36	5.91	0.04	20.48	0.89	233.44
Arao	Sin necrosis hepática	57.80	10.88	0.33	133.30	1.43	6383.93	21.70	5.52	0.09	43.47	0.63	258.42
	Aves con necrosis hepática	78.38	5.26	0.59	149.54	2.02	7551.41	24.45	6.18	0.07	42.35	0.79	298.74
Frailecillo	Sin necrosis hepática	21.21	22.26	0.37	84.36	1.01	3460.88	17.67	5.41	0.11	25.09	0.82	310.52
	Aves con necrosis hepática	93.10	92.53	0.57	143.94	0.51	4810.77	37.82	9.49	0.21	43.55	0.52	445.47
Gaviota	Sin necrosis hepática	3.47	9.11	0.14	26.05	0.54	1185.99	15.14	1.96	0.50	5.70	1.06	154.56
	Aves con necrosis hepática	1.69	4.07	0.16	29.33	6.47	2601.92	20.60	1.95	0.87	4.37	0.93	264.61

Debido al escaso número de animales en las especies frailecillo, cormorán y gaviota, los estudios estadísticos se realizaron sólo para las muestras obtenidas de alca y arao. Sobre dichos valores se

aplicó la prueba estadística no paramétrica de U-Mann Whitney, tal como se muestra en la Tabla 44.

Según los datos descritos en esta Tabla 44, sólo para el grupo de las alcas se puede observar una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para los elementos cadmio, cobalto y cobre. Estos valores son más elevados en las aves en las que no se observa necrosis hepática. Estos resultados se muestran en la Figura 76 con las representaciones de las concentraciones medias de los elementos químicos.

Tabla 44. Prueba estadística para la comparación entre los grupos de aves con presencia y ausencia de necrosis hepática.

Prueba estadística	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca												
U-Mann-Whitney	349	311	284	267	433	421	329	393	363	382	390	335
p-valor	0.14	0.04*	0.02*	0.01*	0.8	0.67	0.08	0.4	0.19	0.32	0.38	0.09
Arao												
U-Mann-Whitney	303	351	312	349	281	335	320	305	364	372	304	321
p-valor	0.16	0.55	0.21	0.53	0.08	0.39	0.27	0.17	0.69	0.80	0.17	0.27

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

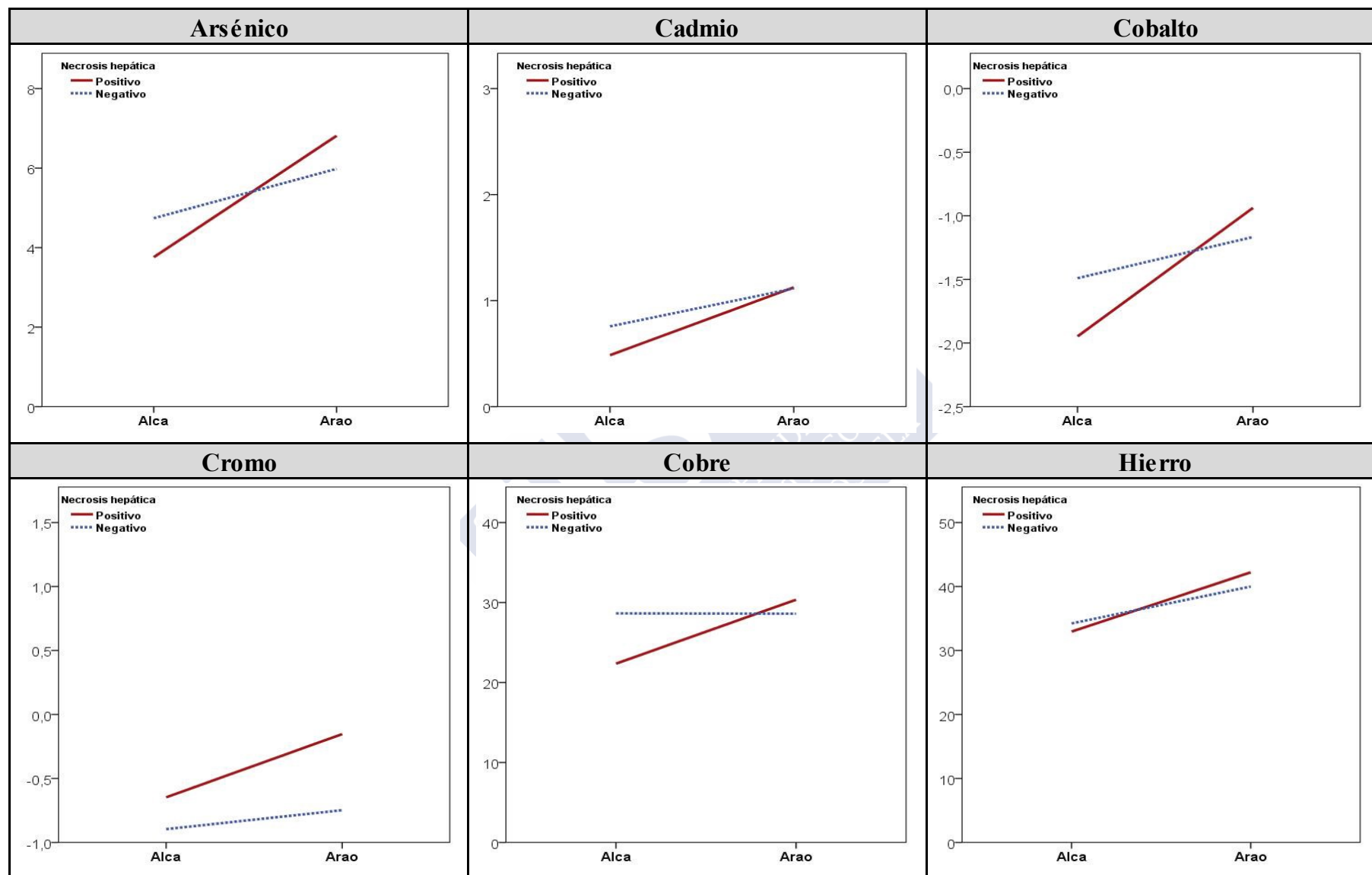


Figura 76. Representaciones gráficas de medias de las concentraciones de elementos químicos en relación con la presencia o ausencia de necrosis hepática para las especies alca y arao.

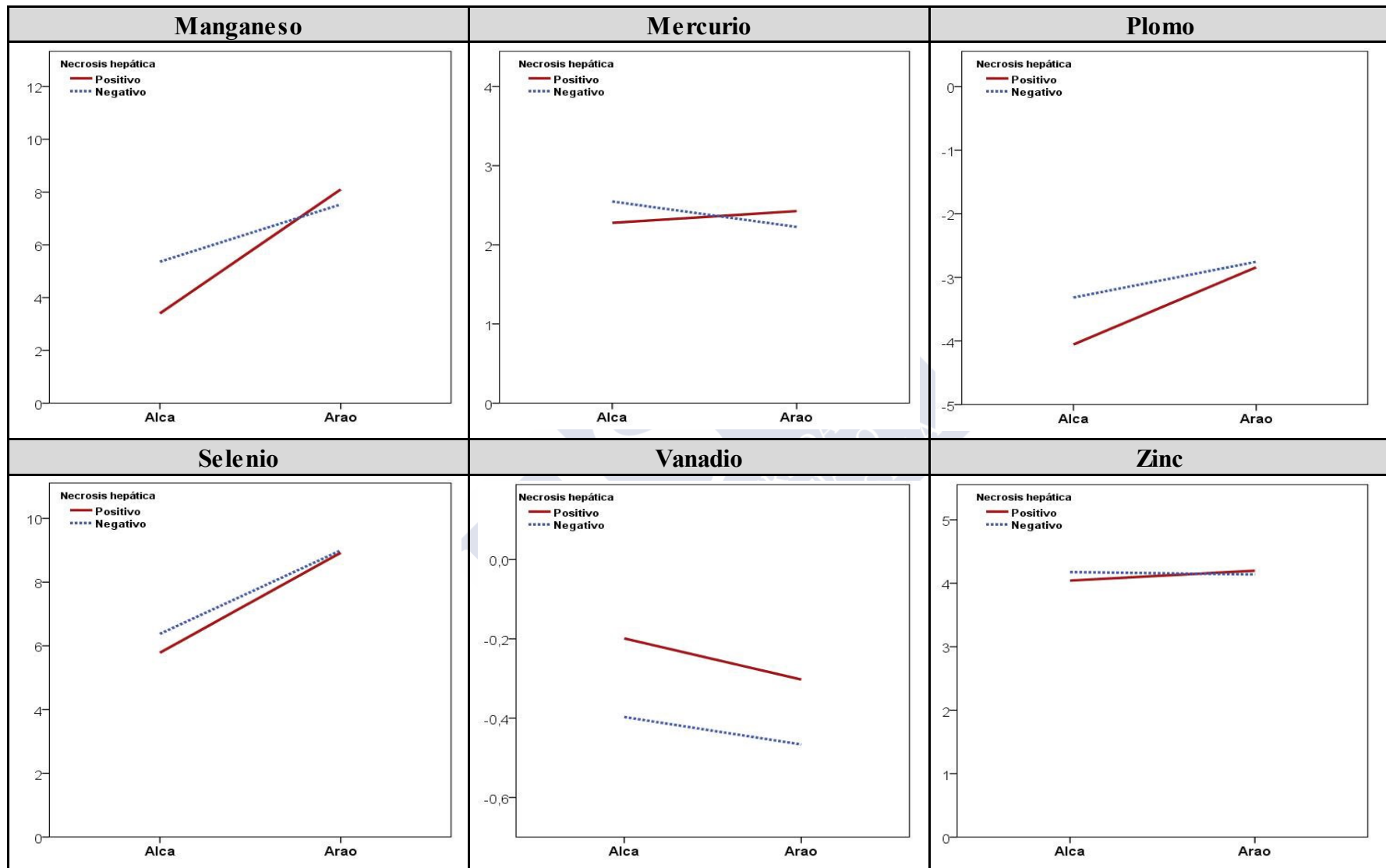


Figura 76 (cont.). Representaciones gráficas de medias de las concentraciones de elementos químicos en relación con la presencia o ausencia de necrosis hepática para las especies alca y arao.

Estas muestras de hígado se procesaron sometiéndolas a dos tinciones diferentes, la primera de hematoxilina-eosina y una segunda tinción más específica que es la tinción de Perls.

El análisis estadístico tiene como variable ordinal la presencia de células teñidas con la tinción Perls, que va desde negativo a +++++, el número de muestras obtenidas para realizar este estudio se presenta en la Tabla 45, y las concentraciones halladas en el laboratorio de toxicología se detallan en la Tabla 46.

Tabla 45. Tabla de contingencia que muestra la frecuencia de aves de acuerdo con los grados de tinción de Perls de los cortes histológicos de hígado.

Especie	Test de Perls en hígado					Total
	Negativo	+	++	+++	++++	
Alca	14	25	9	12	4	64
Arao	6	22	2	6	20	56
Gaviota	8	6	0	0	0	14
Frailecillo	3	2	2	0	1	8
Total	31	55	13	18	25	142

Con los datos normalizados mediante la técnica de Box-Cox, se realizó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal Wallis según la Tabla 47 y los gráficos de concentraciones medias descritos en la Figura 77. El hierro, de acuerdo a los resultados estadísticos, presentó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), destacando a la especie arao, en la que se puede observar que tiene un incremento de concentración en el hígado con más tinción Perls, esto podría explicarse porque el Perls tiñe la hemosiderina presente en los hepatocitos. Esta misma tendencia se aprecia en ambas especies para el vanadio. Por otro lado, en las diferencias halladas en manganeso y selenio no se aprecia una tendencia clara, pudiendo ser que el tamaño de la muestra no fuera suficiente como para poder predecir el resultado esperado.

Tabla 46. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos estudiados de acuerdo con el grado de tinción de Perls observada en hígado.

Especie	Test de Perls	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Negativo	52.59	3.17	0.30	165.31	2.01	5060.15	26.38	8.65	0.06	28.27	0.67	377.19
	+	27.16	2.54	0.37	109.25	0.79	2826.29	11.85	6.60	1.14	22.88	0.71	247.23
	++	23.73	2.67	0.20	97.00	2.37	3419.94	6.01	5.34	0.06	17.50	0.91	233.93
	+++	16.90	2.57	0.20	103.14	1.08	4328.52	9.17	5.58	0.19	21.16	0.82	236.30
	++++	45.39	2.17	0.23	124.66	1.10	3486.15	13.79	4.88	0.06	19.93	1.03	329.66
Arao	Negativo	51.34	4.19	0.36	127.25	0.50	6493.27	23.81	6.12	0.11	47.94	0.51	239.14
	+	53.49	5.85	0.36	128.83	2.60	4937.62	22.87	5.40	0.06	33.05	0.83	280.13
	++	45.18	2.96	0.22	94.16	0.52	4238.42	19.00	4.93	0.01	30.88	0.46	196.61
	+++	53.93	5.07	0.38	145.91	1.93	10974.89	23.53	5.20	0.06	50.16	0.55	281.05
	++++	98.79	12.25	0.69	165.35	1.27	8588.93	23.76	6.66	0.09	51.12	0.74	302.21
Frailecillo	Negativo	63.89	78.85	0.65	122.35	0.66	4554.49	34.38	8.83	0.23	38.92	0.64	445.56
	+	5.40	1.99	0.04	51.69	0.68	1184.45	2.06	2.48	0.02	8.74	0.93	153.46
	++	59.55	39.04	0.29	120.73	1.26	2810.41	28.03	7.60	0.12	29.75	0.60	306.21
	+++												
	++++	63.80	70.29	0.95	141.74	0.70	10083.50	38.50	8.86	0.22	62.35	0.68	633.00
Gaviota	Negativo	2.15	7.94	0.16	30.84	1.80	1196.02	16.08	2.18	0.57	5.35	1.06	175.34
	+	4.34	8.14	0.11	21.30	1.83	1880.57	16.63	1.66	0.59	5.50	1.00	181.88
	++												
	+++												
	++++												

Tabla 47. Pruebas estadísticas de comparación que evalúan las diferencias entre los niveles de tinción de Perls en hígado.

Especie	Parámetros estadísticos	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Prueba de Kruskall-Wallis	5.81	2.97	8.51	8.46	5.14	9.80	16.53	5.71	2.09	6.17	4.31	11.40
	p-valor	0.21	0.56	0.07	0.08	0.27	0.04*	0.00*	0.22	0.72	0.19	0.37	0.02*
Arao	Prueba de Kruskall-Wallis	5.08	3.08	7.07	5.08	5.04	13.75	0.88	2.58	3.77	13.42	12.71	2.65
	p-valor	0.28	0.54	0.13	0.28	0.28	0.01*	0.93	0.63	0.44	0.01*	0.01*	0.62
Gaviota	Prueba de U-Mann Whitney	24	23	13	17	20	11	20	21	21	24	20	22
	p-valor	1.000	0.950	0.181	0.414	0.662	0.108	0.662	0.755	0.755	1.000	0.662	0.852

*Resultado que muestra una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05).

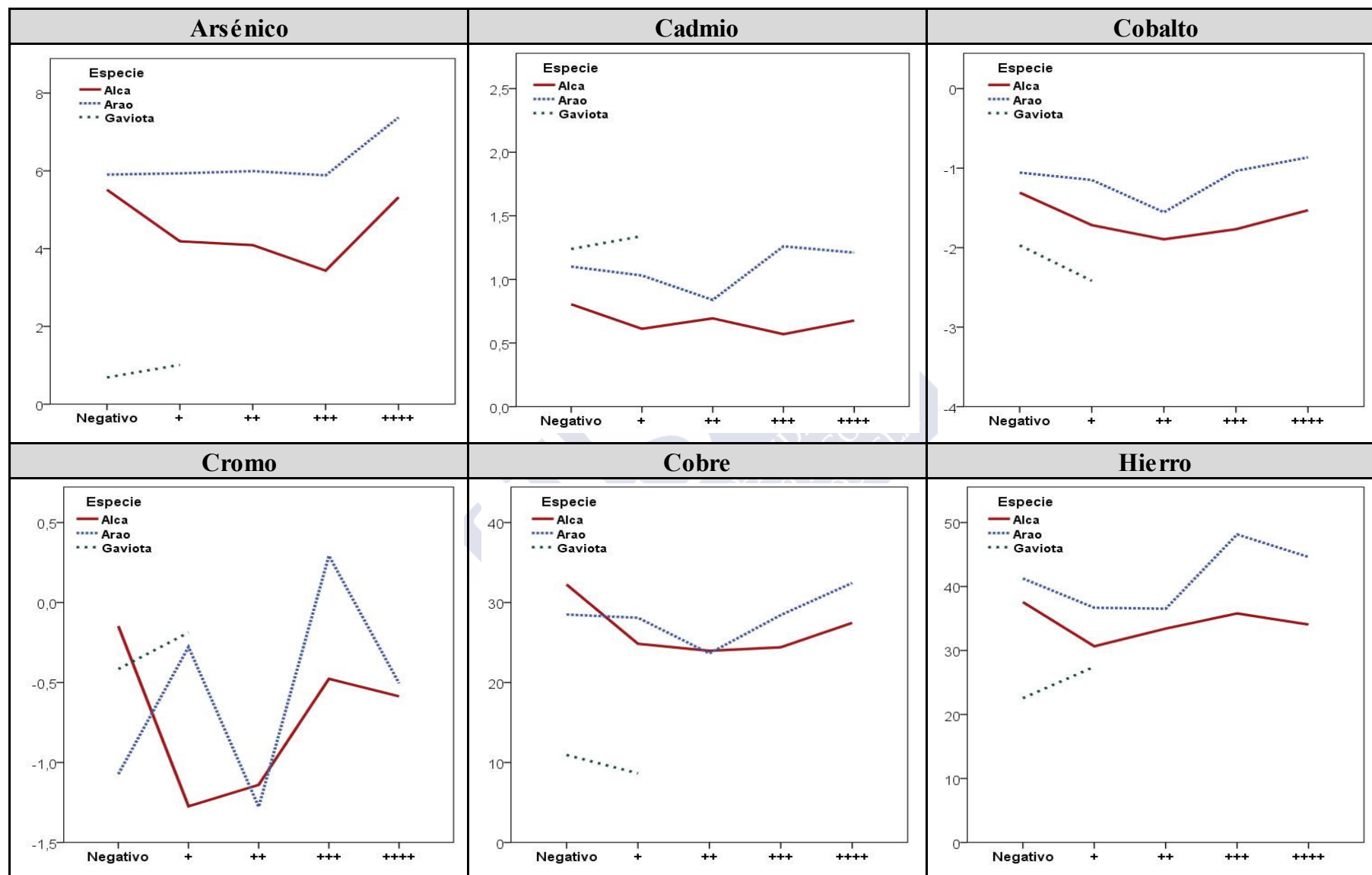


Figura 77. Representaciones gráficas de las concentraciones medias de elementos químicos estudiados respecto a de tinción de Perls en hígado para alca, arao y gaviota.

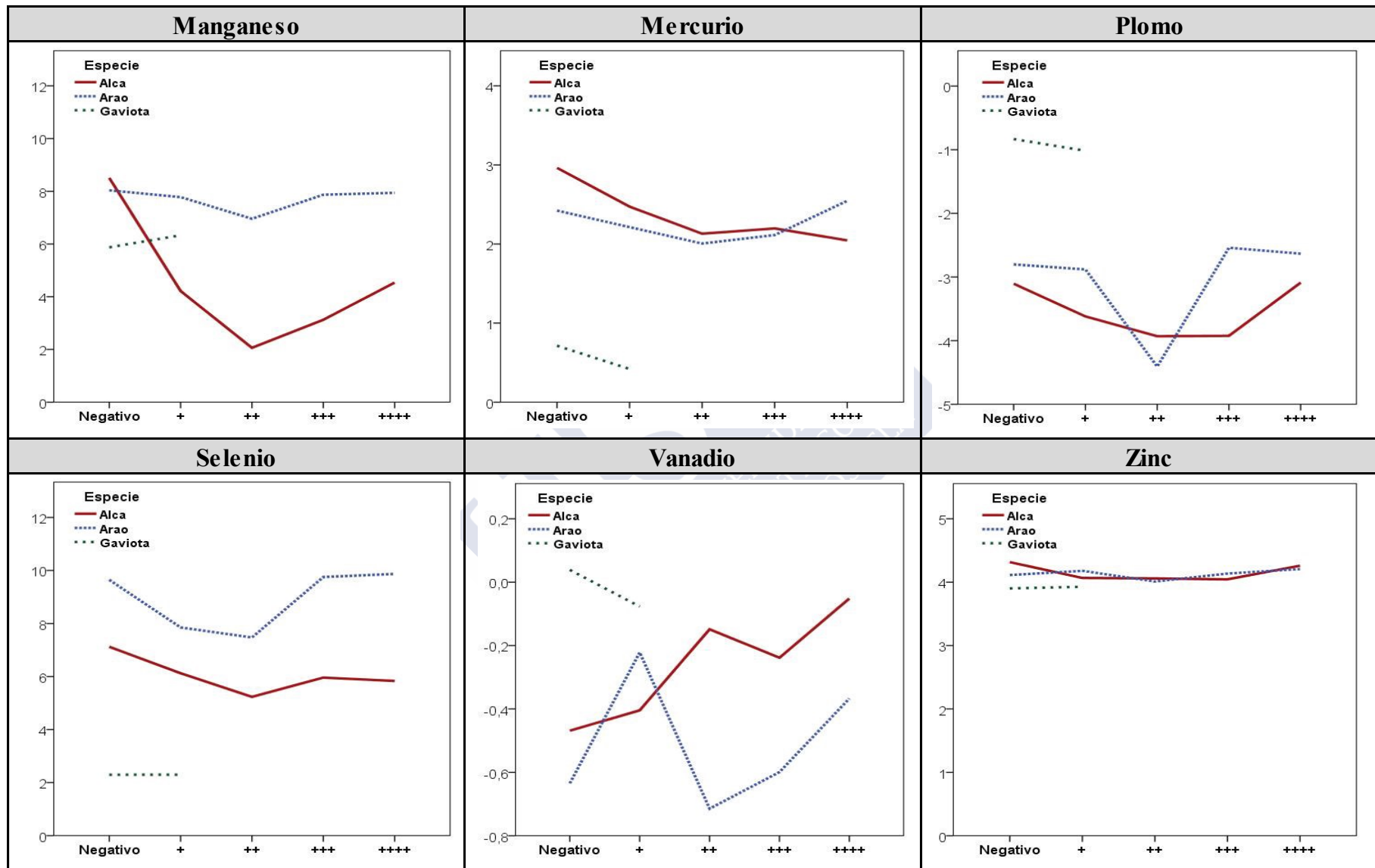


Figura 77 (cont.). Representaciones gráficas de las concentraciones medias de elementos químicos estudiados respecto a la tinción de Perls en hígado para alca, arao y gaviota.

9.2. Relación entre el estudio toxicológico y el estudio histopatológico en riñón.

Se realizó un estudio comparativo de la necrosis tubular renal observada microscópicamente entre los grupos de aves; el número de individuos evaluados se muestra en la Tabla 48. Como puede observarse, los grupos de alcas y araos fueron los más numerosos por lo que el estudio estadístico se centró en estas dos especies.

Tabla 48. Aves marinas con necrosis tubular renal.

Especie	Necrosis tubular		Total
	Negativo	Positivo	
Alca	43	21	64
Arao	17	39	56
Gaviota	10	4	14
Frailecillo	8	0	8
Total	78	64	142

Por otro lado, se realizó la estadística descriptiva de las concentraciones de elementos químicos y la observación de necrosis tubular en el estudio histológico del riñón tal como se muestra en la Tabla 49.

Tabla 49. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos obtenidos en las aves con y sin necrosis tubular renal.

Especie	Categoría	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Sin necrosis tubular	22.08	6.91	0.33	50.82	1.60	955.85	15.28	5.53	0.11	39.14	0.99	244.98
	Aves con necrosis tubular	20.12	8.21	0.25	43.11	2.18	798.56	10.68	5.07	0.06	40.62	1.15	224.52
Arao	Sin necrosis tubular	48.38	27.94	0.51	66.72	3.17	1018.24	23.67	5.78	0.24	64.24	0.97	437.68
	Aves con necrosis tubular	36.39	17.20	0.54	81.85	2.66	1272.63	26.03	5.68	0.18	75.31	1.07	436.94
Frailecillo	Sin necrosis tubular	22.06	132.09	0.60	36.33	2.31	732.90	9.35	4.27	3.24	51.54	0.76	244.62
	Aves con necrosis tubular												
Gaviota	Sin necrosis tubular	4.46	61.27	0.22	34.23	2.29	783.45	16.87	2.02	4.08	11.28	1.54	225.39
	Aves con necrosis tubular	2.61	104.57	0.43	48.84	1.50	586.94	15.52	1.44	4.30	9.85	1.35	358.60

Para el estudio estadístico, se realizó la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney para muestras independientes, evaluando la diferencia entre las concentraciones de los elementos químicos

estudiados y la presencia o ausencia de necrosis tubular. De acuerdo con los resultados descritos en la Tabla 50, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en ningún caso. Estos resultados se muestran en las representaciones gráficas de concentraciones medias de la Figura 78.

Tabla 50. Prueba estadística para la comparación entre los grupos de aves con presencia y ausencia de necrosis tubular renal.

Prueba estadística	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca												
U-Mann-Whitney	415	406	432	445	430	444	347	424	434	399	400	451
p-valor	0.60	0.52	0.78	0.93	0.76	0.91	0.14	0.69	0.80	0.45	0.46	0.99
Arao												
U-Mann-Whitney	310	317	285	241	297	226	276	316	320	254	275	274
p-valor	0.81	0.91	0.49	0.14	0.64	0.08	0.39	0.90	0.96	0.21	0.38	0.37
Gaviota												
U-Mann-Whitney	11	8	8	7	13	12	12	9	14	15	10	8
p-valor	0.573	0.287	0.287	0.217	0.811	0.692	0.692	0.371	0.937	1.000	0.469	0.287

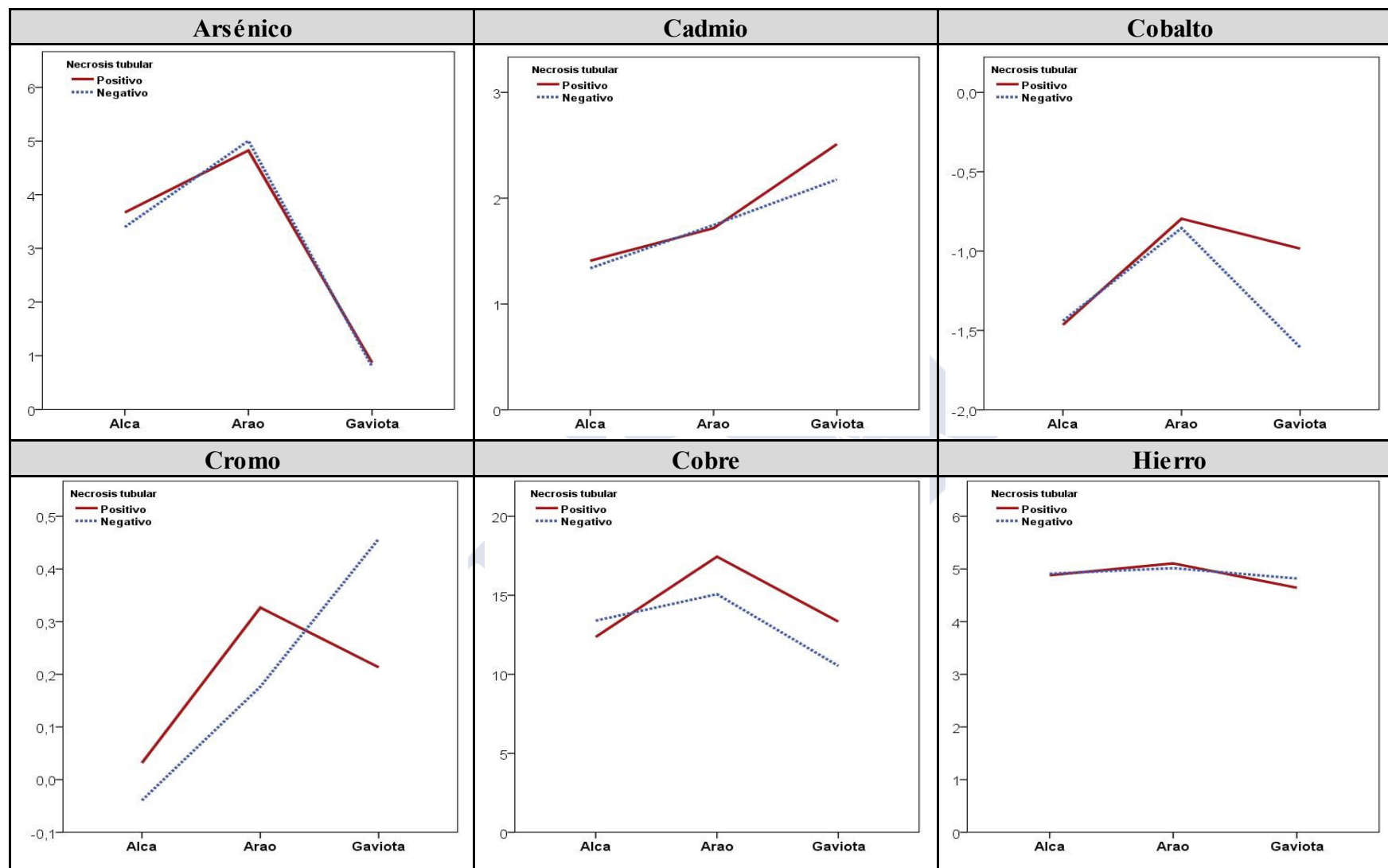


Figura 78. Representaciones gráficas de medias de las concentraciones de elementos químicos en presencia o ausencia de necrosis tubular renal para las especies alca, arao y gaviota.

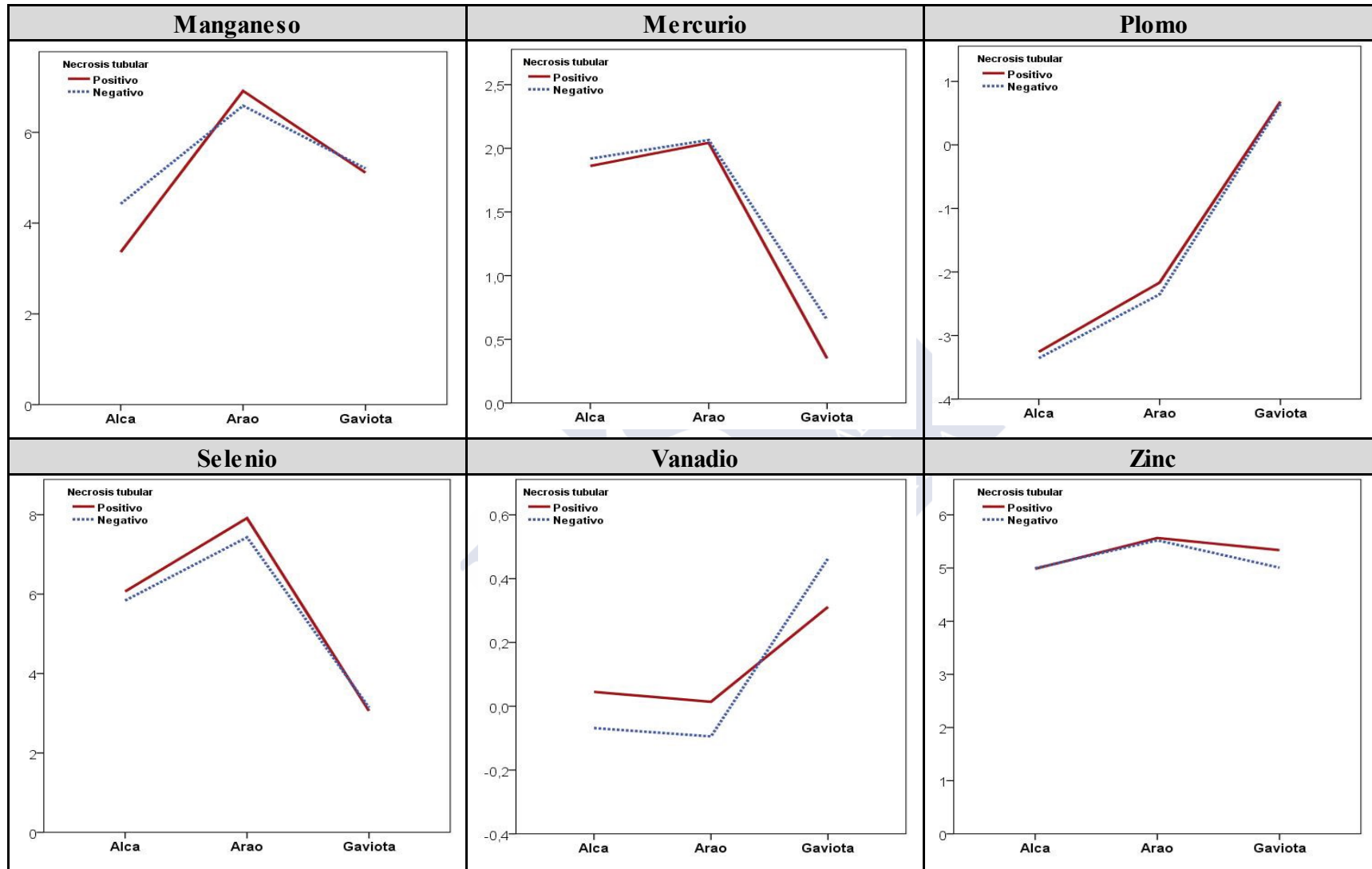


Figura 78 (cont.). Representación gráfica de medias de las concentraciones de elementos químicos en presencia o ausencia de necrosis tubular renal para las especies alca, arao y gaviota.

En cuanto al estudio histopatológico de los cortes de riñón y sometidos a la tinción de Perls, el análisis estadístico descriptivo tuvo como variable ordinal la presencia de células teñidas con la tinción, que fue desde negativo a ++++; la frecuencia de las muestras se expone en la Tabla 51, mientras que las concentraciones promedio obtenidas en el análisis toxicológico se detallan en la Tabla 52.

Con los datos obtenidos tras la tinción de Perls no se realizó estudio estadístico, debido a que no se tuvieron suficiente número de animales con elevada positividad a los depósitos de hierro (++ y ++++), como para obtener datos fiables.

Tabla 51. Tabla de contingencia que muestra la frecuencia de aves de acuerdo con los grados de tinción de Perls de los cortes histológicos de riñón.

Especie	Test de Perls en riñón				Total
	Negativo	+	++	++++	
Alca	56	8	0	0	64
Arao	39	15	1	1	56
Gaviota	14	0	0	0	14
Frailecillo	8	0	0	0	8
Total	117	23	1	1	142

Tabla 52. Concentraciones (ppm p.s.) de los elementos químicos estudiados de acuerdo con el grado de tinción de Perls observada en riñón.

Especie	Test de Perls	As	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Mn	Hg	Pb	Se	V	Zn
Alca	Negativo	22.87	7.51	0.32	50.06	1.90	920.47	15.13	5.44	0.11	40.98	1.01	244.24
	+	11.40	6.08	0.18	35.90	0.99	790.61	4.25	4.92	0.02	30.12	1.23	196.42
Arao	Negativo	42.62	24.83	0.58	71.71	2.74	1067.19	24.32	5.82	0.22	63.45	1.00	433.00
	+	34.33	10.86	0.45	95.81	3.18	1285.38	28.38	5.78	0.16	81.71	1.09	459.78
	++	35.89	15.42	0.45	82.11	2.53	4230.80	25.12	2.46	0.17	132.70	1.93	378.34
	++++	34.79	6.75	0.15	0.45	0.45	1605.41	16.56	3.62	0.00	184.42	0.58	314.99
Frailecillo	Negativo	22.06	132.09	0.60	36.33	2.31	732.90	9.35	4.27	3.24	51.54	0.76	244.62
Gaviota	Negativo	4.03	71.26	0.27	37.60	2.11	738.10	16.56	1.89	4.13	10.95	1.49	256.13

En patos de la especie ánsar careto (*Anser albifrons*), teniendo concentraciones de plomo en hígado de 6.9 a 67.7 ppm peso húmedo, a nivel macroscópico, se observó el hígado manchado y la impactación del proventrículo; a nivel histológico se observó una hemosiderosis en las células de Kuppfer, dilatación de los canalículos biliares y pigmentación biliar de hepatocitos; sin embargo, la severidad de las lesiones no estuvo correlacionada con la concentración de plomo (Ochiai *et al.*, 1993). Lesiones similares se hallaron en cisnes cantores (*Cygnus cygnus*) de Japón, con niveles en rango de 5.5 a 44.3 ppm peso húmedo en hígado (Ochiai *et al.*, 1992). En otro estudio, realizado también en Japón, con cisnes contaminados por plomo, los niveles de este en hígado oscilaron entre 14 y 34 ppm y en riñón entre 30.2 y 122 ppm; en la evaluación microscópica se observaron inclusiones intranucleares en el epitelio tubular renal (Nakade *et al.*, 2005).

La hemosiderosis hepática también se recoge en estudios experimentales de ingestión de fuel realizados en cernícalos americanos (*Falco sparverius*) (Pattee and Franson, 1982). Estos autores mencionaron que podría deberse a una excesiva hemólisis de eritrocitos, sin embargo en el estudio mencionado, dos aves controles también presentaron hemosiderosis hepática. Fry y Lowestine (1985) propusieron que la hemosiderosis era una observación frecuente en aves en cautiverio y podía ser de origen multifactorial, provocada por un exceso de hierro o anemias hemolíticas y aplásicas, y que además, el daño celular hepático estaba incrementado en casos de intoxicación por plomo (Fry and Lowenstine, 1985).





VI. CONCLUSIONES



1. La presencia de fuel en el interior del tracto digestivo no está directamente relacionada con el grado de impregnación externa, lo que puede indicar que las aves ingirieron el crudo voluntariamente y no para limpiarse el plumaje.
2. El hecho de que las necrosis en hígado y riñón se hayan observado exclusivamente en aves con fuel en el tubo digestivo, y que dichas lesiones se incrementen con el paso de las semanas tras el vertido, confirma que ambos órganos son los más afectados por los efectos tóxicos tras la ingestión del fuel del *Prestige*.
3. En aves parasitadas por *Contracaecum rudolphii* no se observaron lesiones importantes asociadas a la presencia de parásitos, lo que podría indicar que existe una relación de simbiosis parásito-hospedador. La mayor parasitación se observó en las alcas, en las cuales la presencia de los parásitos permitió mayores concentraciones de mercurio y zinc en hígado, y protegió frente a la presencia de vanadio en riñón.
4. El fuel analizado presentó niveles de vanadio muy elevados, sin embargo, en las aves, debido a su mala absorción por vía oral, las concentraciones de este elemento fueron comparativamente inferiores.
5. Para todos los elementos químicos estudiados, a excepción del cromo, tanto en hígado como en riñón, los resultados demostraron que existía una diferencia significativa entre especies.
6. Las concentraciones de algunos elementos químicos tóxicos tanto en hígado como en riñón, fueron especie-dependientes, ya que en álcidos destacaron los altos niveles de arsénico y mercurio frente a las gaviotas que presentaron niveles más elevados de plomo y vanadio, diferencias que podrían explicarse por su distinto comportamiento etológico y alimentario.
7. Las concentraciones de arsénico y cadmio en hígado y de arsénico, manganeso y vanadio en riñón resultaron dependientes de la ingestión de fuel por parte de las aves, datos que se relacionaron directamente con la mayor hemosiderosis del hígado y necrosis tubular en riñón, respectivamente.
8. Existió una clara tendencia temporal en los dos primeros meses tras el vertido, al aumento de los niveles de todos los elementos químicos analizados, con excepción del vanadio, en concordancia con los datos de necrosis hepática y renal observados.
9. En cuanto al sexo, las concentraciones de cromo en araos, dependientes de la ingestión de fuel, resultaron más altas en machos que en hembras, sin embargo en alcas las concentraciones de vanadio fueron sexo-dependientes, a favor de las hembras, con independencia de la ingestión de fuel.
10. Este trabajo multidisciplinar, desde la perspectiva de la anatomía patológica y la toxicología, intenta explicar las causas de muerte de las aves tras el vertido del *Prestige*, en el que destacan concentraciones superiores de elementos químicos con respecto a otros estudios, lo que sugiere prestar más atención a los metales pesados tóxicos, en el momento del rescate y la terapia de las aves marinas afectadas por vertidos de petróleo.





VII. BIBLIOGRAFÍA



- Abe, M., Usuda, K., Hayashi, S., Ogawa, I., Furukawa, S., Igarashi, M., Nakae, D., 2008. Carcinogenic risk of copper gluconate evaluated by a rat medium-term liver carcinogenicity bioassay protocol. *Archives of Toxicology* 82, 563-571.
- Abollo, E., Gestal, C., Pascual, S., 2001. Anisakid infection in the European shag *Phalacrocorax aristotelis aristotelis*. *Journal of Helminthology* 75, 209-214.
- AESAN, 2012. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre el riesgo asociado a la presencia de plomo en carne de caza silvestre en España. *Revista del Comité Científico* 15, 131-159.
- AFIP, 2011. An overview of chemical and analytical methods for the study of trace elements, metals and foreign materials in tissues. Armed Forces Institute of Pathology. EE.UU.
- Aguilera, F., Méndez, J., Pasaro, E., Laffon, B., 2010. Review on the effects of exposure to spilled oils on human health. *Journal of Applied Toxicology* 30, 291-301.
- Ahmad, I., Coelho, J.P., Mohmood, I., Anjum, N.A., Pacheco, M., Santos, M.A., Duarte, A.C., Pereira, E., 2012. Mercury contaminated systems under recovery can represent an increased risk to seafood human consumers – A paradox depicted in bivalves' body burdens. *Food Chemistry* 133, 665-670.
- Albanis, T.A., Goutner, V., Konstantinou, I.K., Frigis, K., 2003. 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? *Environmental Pollution* 126, 245-255.
- Albers, P.H., 1978. The effects of petroleum of different stages of incubation in bird eggs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 19, 624-630.
- Albers, P.H., 1991. The Effects of Oil on Wildlife: Research, Rehabilitation, and General Concerns, In: White, J.e. (Ed.) *Oil spills and the environment: A review of chemical fate and biological effects of petroleum*. Sheridan Press, Hanover, PA., pp. 1-12.
- Albers, P.H., Green, D.E., Sanderson, C.J., 1996. Diagnostic criteria for selenium toxicosis in aquatic birds: dietary exposure, tissue concentrations, and macroscopic effects. *Journal of Wildlife Diseases* 32, 468-485.
- Alonso-Álvarez, C., Munilla, I., López-Alonso, M., Velando, A., 2007a. Sublethal toxicity of the Prestige oil spill on yellow-legged gulls. *Environmental International* 33, 773-781.
- Alonso-Álvarez, C., Pérez, C., Velando, A., 2007b. Effects of acute exposure to heavy fuel oil from the Prestige spill on a seabird. *Aquatic Toxicology* 84, 103-110.
- Alonso, M.L., Benedito, J.L., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J., Shore, R.F., 2000. Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. *Science of The Total Environment* 246, 237-248.
- Altun, T., Pehlivan, E., 2012. Removal of Cr(VI) from aqueous solutions by modified walnut shells. *Food Chemistry* 132, 693-700.
- Álvarez-Salgado, X.A., Herrera, J.L., Gago, J., Otero, P., Soriano, J.A., Pola, C.G., García-Soto, C., 2006. Influence of the oceanographic conditions during spring 2003 on the transport of the Prestige tanker fuel oil to the Galician coast. *Marine Pollution Bulletin* 53, 239-249.
- Andrade, M.L., Covelo, E.F., Vega, F.A., Marcet, P., 2004. Effect of the Prestige oil spill on salt marsh soils on the coast of Galicia (northwestern Spain). *Journal Environmental Quality* 33, 2103-2110.
- Anteau, M.J., Afton, A.D., Custer, C.M., Custer, T.W., 2007. Relationships of cadmium, mercury, and selenium with nutrient reserves of female lesser scaup (*Aythya affinis*) during winter and spring migration. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26, 515-520.
- Anzola, H., 1999. Algunas descripciones de la actividad biológica y fisiológica del selenio. *Asociación Colombiana de Médicos Veterinarios y Zootecnistas (ACOVEZ)* 24, 17-20.
- Arcos, F., 2009. El arao subsiste en Sisargas. *La vanguardia*. España. 5 de enero de 2009.
- Arcos, F., Mouriño, L., Martínez Mouriño, J.M., Sierra Abraín, F., 1995. Notas sobre ecología, mortalidad y evolución de las poblaciones de arao (*Uria aalge*) en el suroeste de Galicia. *Chioglossa* 1, 53-59.

- Arcos, J.M., Ruiz, X., Bearhop, F., Furness, R.W., 2002. Mercury levels in seabirds and their fish prey at the Ebro Delta (NW Mediterranean): the role of trawler discards as a source of contamination. *Marine Ecology Progress Series* 232, 281-290.
- ATSDR 1996. Resumen de Salud Pública Vanadio (Vanadium) CAS#: 7440-62-2 (Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades), p. 4.
- ATSDR 2004a. Cobre CAS # 7440-50-8 (EE.UU., Agencia para sustancias y registro de enfermedades), p. 2.
- ATSDR 2004b. Toxicological profile for cobalt (Atlanta, Georgia 30333, Agency for Toxic Substances and Disease Registry), p. 486.
- ATSDR 2008a. Chromium Toxicity. In *Case Studies in Environmental Medicine* (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), p. 67.
- ATSDR 2008b. Resumen de Salud Pública-Cadmio (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), p. 10.
- Baars, B.J., 2002. The wreckage of the oil tanker 'Erika'-human health risk assessment of beach cleaning, sunbathing and swimming. *Toxicology Letters* 128, 55-68.
- Baba, N. 1994. Biological effect of pollutants for the northern fur seals and sea birds, and bioaccumulation process of pollutants. In *National Research Institute of Far Seas Fisheries* (Japan, Fisheries Agency), p. 8.
- Bagur, M.G., Morales, S., López-Chicano, M., 2009. Evaluation of the environmental contamination at an abandoned mining site using multivariate statistical techniques-the Rodalquilar (Southern Spain) mining district. *Talanta* 80, 377-384.
- Balseiro, A., Espi, A., Márquez, I., Pérez, V., Ferreras, M.C., Marín, J.F., Prieto, J.M., 2005. Pathological features in marine birds affected by the prestige's oil spill in the north of Spain. *Journal Wildlife Diseases* 41, 371-378.
- Barbieri, E., Borges, G., Andrade, P., Kennedy, A., Patrocínio, J., 2007. Heavy metal concentration in tissues of *Puffinus gravis* sampled on the Brazilian coast. *Revista Brasileira de Ornitologia* 15, 69-72.
- Barbieri, E., Passos, E., Filippini, A., dos Santos, I., Garcia, C., 2010. Assessment of trace metal concentration in feathers of seabird (*Larus dominicanus*) sampled in the Florianópolis, SC, Brazilian coast. *Environmental Monitoring and Assessment* 169, 631-638.
- Barrett, R., 2001. The breeding demography and egg size of north norwegian atlantic puffins (*Fratercula arctica*) and razorbills (*Alca torda*) during 20 years of climatic variability. *Atlantic seabirds* 3, 97-112.
- Barsiene, J., Rybakovas, A., Garnaga, G., Andreikenaite, L., 2012. Environmental genotoxicity and cytotoxicity studies in mussels before and after an oil spill at the marine oil terminal in the Baltic Sea. *Environmental Monitoring and Assessment* 184, 2067-2078.
- Barson, M., Marshall, B.E., 2004. First record of *Contraecaecum* spp. (Nematoda: *Anisakidae*) in fish-eating birds from Zimbabwe. *J S Afr Vet Assoc* 75, 74-78.
- Barus, V., Tenora, F., Kracmar, S., Prokes, M., 2001. Cadmium and Lead concentrations in *Contraecaecum rudolphii* (nematoda) in his host *Phalacrocorax carbo* (Aves). *Folia Parasitologica* 48, 77-78.
- Berland, B., 1982. Image reversal in microscopy. *Transactions of the American Microscopical Society* 101, 174-180.
- Bernabeu, A.M., Nuez de la Fuente, M., Rey, D., Rubio, B., Vilas, F., Medina, R., González, M.E., 2006. Beach morphodynamics forcements in oiled shorelines: Coupled physical and chemical processes during and after fuel burial. *Marine Pollution Bulletin* 52, 1156-1168.
- Bhattacharya, P., Welch, A.H., Stollenwerk, K.G., McLaughlin, M.J., Bundschuh, J., Panauallah, G., 2007. Arsenic in the environment: Biology and Chemistry. *Science of The Total Environment* 379, 109-120.
- Biedunkiewicz, A., Dziekońska-Rynko, J., Rokicki, J., 2012. Black cormorant *Phalacrocorax carbo* (L., 1758) as a vector of fungi and parasites occurring in the gastrointestinal tract. *Biologia* 67, 417-424.
- Binkowski, L.J., Sawicka-Kapusta, K., Szarek, J., Strzyzewska, E., Felsmann, M., 2013. Histopathology of liver and kidneys of wild living Mallards *Anas platyrhynchos* and

- Coots Fulica atra with considerable concentrations of lead and cadmium. *Sci Total Environ* 450-451, 326-333.
- Boersma, P.D., 1986. Ingestion of petroleum by seabirds can serve as a monitor of water quality. *Science* 231, 373-376.
- Bohannon, J., Bosch, X., Withgott, J., 2002. Marine ecology. Scientists brace for bad tidings after spill. *Science* 298, 1695.
- Bond, A.L., Diamond, A.W., 2009a. Mercury concentrations in seabird tissues from Machias Seal Island, New Brunswick, Canada. *The Science of The Total Environment* 407, 4340-4347.
- Bond, A.L., Diamond, A.W., 2009b. Total and methyl mercury concentrations in seabird feathers and eggs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 286-291.
- Boulassel, B., Sadeg, N., Roussel, O., Perrin, M., Belhadj-Tahar, H., 2011. Fatal poisoning by vanadium. *Forensic Science International* 206, e79-e81.
- Bouquegneau, J.M., Coignoul, F., Das, K., Debacker, V., Haelters, J., Holsbeek, L., Jauniaux, T., Joiris, C., Stienen, E., Tavernier, J., Van Waeyenberge, J. 2001. North Sea seabirds and marine mammals: pathology and ecotoxicology. In *Oceanology*, University of Liège, p. 10.
- Bouquegneau, J.M., Debacker, V., Gobert, S., Havelange, S., 1996. Role of metallothioneins in metal regulation by the guillemot *Uria aalge*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Pharmacology, Toxicology & Endocrinology* 113, 135-139.
- Braune, B.M., Outridge, P.M., Fisk, A.T., Muir, D.C., Helm, P.A., Hobbs, K., Hoekstra, P.F., Kuzyk, Z.A., Kwan, M., Letcher, R.J., Lockhart, W.L., Norstrom, R.J., Stern, G.A., Stirling, I., 2005. Persistent organic pollutants and mercury in marine biota of the Canadian Arctic: an overview of spatial and temporal trends. *The Science of The Total Environment* 351-352, 4-56.
- Briggs, K.T., Gershwin, M.E., Anderson, D.W., 1997. Consequences of petrochemical ingestion and stress on the immune system of seabirds. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 54, 718-725.
- Briggs, K.T., Yoshida, S.H., Gershwin, M.E., 1996. The influence of petrochemicals and stress on the immune system of seabirds. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 23, 145-155.
- Brisbane, C. 2007. Heavy metal toxicosis. In *Care sheet (Queensland, Brisbane Bird and Exotic Veterinary Center)*, p. 1.
- Brown, D.A., Chatel, K.W., 1978. Interactions between cadmium and zinc in cytoplasm of duck liver and kidney. *Chemico-Biological Interactions* 22, 271-279.
- Brzóska, M.M., Moniuszko-Jakoniuk, J., 2001. Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and Chemical Toxicology* 39, 967-980.
- Bull, K.R., Murton, R.K., Osborn, D., Ward, P., Cheng, L., 1977. High levels of cadmium in Atlantic seabirds and sea-skaters. *Nature* 269, 507-509.
- Burger, A.E., 1993. Estimating the mortality of seabirds following oil spills: Effects of spill volume. *Marine Pollution Bulletin* 26, 140-143.
- Burger, J., 2002. Food chain differences affect heavy metals in bird eggs in Barnegat Bay, New Jersey. *Environmental Research* 90, 33-39.
- Burger, J., 2007. A framework and methods for incorporating gender-related issues in wildlife risk assessment: Gender-related differences in metal levels and other contaminants as a case study. *Environmental Research* 104, 153-162.
- Burger, J., 2008. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Science of The Total Environment* 389, 37-45.
- Burger, J., Fossi, C., McClellan-Green, P., Orlando, E.F., 2007a. Methodologies, bioindicators, and biomarkers for assessing gender-related differences in wildlife exposed to environmental chemicals. *Environmental Research* 104, 135-152.
- Burger, J., Gochfeld, M., 1993. Lead and cadmium accumulation in eggs and fledgling seabirds in the New York bight. *Environmental Toxicology and Chemistry* 12, 261-267.

- Burger, J., Gochfeld, M., 2000a. Metal 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.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2000b. Metals in Albatross Feathers from Midway Atoll: Influence of Species, Age, and Nest Location. *Environmental Research* 82, 207-221.
- Burger, J., Gochfeld, M., Sullivan, K., Irons, D., 2007b. Mercury, arsenic, cadmium, chromium lead, and selenium in feathers of pigeon guillemots (*Cephus columba*) from Prince William Sound and the Aleutian Islands of Alaska. *Science of The Total Environment* 387, 175-184.
- Burger, J., Schreiber, E.A.E., Gochfeld, M., 1992. Lead, cadmium, selenium and mercury in seabird feathers from the tropical mid-pacific. *Environmental Toxicology and Chemistry* 11, 815-822.
- Burke, C.M., Montevecchi, W.A., Wiese, F.K., 2012. Inadequate environmental monitoring around offshore oil and gas platforms on the Grand Bank of Eastern Canada: are risks to marine birds known? *Journal of Environmental Management* 104, 121-126.
- Burthe, S., Newell, M.A., Goodman, G., Butler, A., Bregnballe, T., Harris, E., Wanless, S., Cunningham, E.J.A., Daunt, F., 2013. Endoscopy as a novel method for assessing endoparasite burdens in free-ranging European shags (*Phalacrocorax aristotelis*). *Methods in Ecology and Evolution* 4, 207-216.
- Cai, L., Li, X.K., Song, Y., Cherian, M.G., 2005. Essentiality, toxicology and chelation therapy of zinc and copper. *Current Medicinal Chemistry* 12, 2753-2763.
- Campen, M.J., Nolan, J.P., Schladweiler, M.C., Kodavanti, U.P., Costa, D.L., Watkinson, W.P., 2002. Cardiac and thermoregulatory effects of instilled particulate matter-associated transition metals in healthy and cardiopulmonary-compromised rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 65, 1615-1631.
- Camphuysen, K.C., 2010. Declines in oil-rates of stranded birds in the North Sea highlight spatial patterns in reductions of chronic oil pollution. *Marine Pollution Bulletin* 60, 1299-1306.
- Camphuysen, K.C., 2011. Seabirds and chronic oil pollution: self-cleaning properties of gulls, Laridae, as revealed from colour-ring sightings. *Marine Pollution Bulletin* 62, 514-519.
- Canello, T., Friedman-Levi, Y., Mizrahi, M., Binyamin, O., Cohen, E., Frid, K., Gabizon, R., 2012. Copper is toxic to PrP-ablated mice and exacerbates disease in a mouse model of E200K genetic prion disease. *Neurobiology of Disease* 45, 1010-1017.
- Carballeira Ocaña, A., Aboal Viñas, J., 2000. Bancos de especímenes ambientales: una propuesta para Galicia. *Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela*, 123 p. p.
- Carbonell, M., Bravo, Y., Fernández, T., López Becero, A., Fidalgo Álvarez, L., Hernández Moreno, D., Soler Rodríguez, F., Pérez López, M., 2007. Contenido hepático de mercurio y plomo en cormorán moñudo (*Phalacrocorax aristotelis*) y alcatraz atlántico (*Morus bassanus*) procedentes de las costas de Galicia (España). *Revista Toxicología Española* 24, 31-35.
- Carracedo, P., Torres-López, S., Barreiro, M., Montero, P., Balseiro, C.F., Penabad, E., Leita, P.C., Pérez-Munuzuri, V., 2006. Improvement of pollutant drift forecast system applied to the Prestige oil spills in Galicia Coast (NW of Spain): development of an operational system. *Marine Pollution Bulletin* 53, 350-360.
- Carrera, G., Melgar, J., Alary, J., Lamboeuf, Y., Martel, P., 1992. Cadmium accumulation and cytotoxicity in rat hepatocytes co-cultured with a liver epithelial cell line. *Toxicol In Vitro* 6, 201-206.
- CEDRE. 2012. Centre de Documentation, de Recherche et d'Experimentation sur les Pollutions Accidentelles des Eaux. <http://www.cedre.fr/fr/cedre/presentation-generale.php>. 10 de diciembre, 2012.
- Celis, J., 2009. Efectos de los derrames de petróleo sobre los hábitats marinos. *Ciencia ahora* 24, 1-9.
- Clarke, J.U., 1998. Evaluation of Censored Data Methods To Allow Statistical Comparisons among Very Small Samples with Below Detection Limit Observations. *Environmental Science & Technology* 32, 177-183.

- Cobelo-García, A., Prego, R., 2003. Land inputs, behaviour and contamination levels of copper in a ria estuary (NW Spain). *Marine Environmental Research* 56, 403-422.
- Connors, P., Anderlini, V., Risebourg, W., 1972. Heavy metal concentration in brown pelicans from florida to california. *Cal-Nev Wildlife*, 56-64.
- Coon, N.C., Dieter, M.P., 1981. Responses of adult mallard ducks to ingested South Louisiana crude oil. *Environmental Research* 24, 309-314.
- Coppock, R.W., Dziwenka, M.M., 2011. Reproductive and developmental toxicity in avian species, In: *Reproductive and Developmental Toxicology*. Academic Press, San Diego, pp. 1109-1116.
- Couillard, C.M., Leighton, F.A., 1989. Comparative pathology of Prudhoe Bay Crude Oil and inert shell sealants in chicken embryos. *Fundamental and Applied Toxicology* 13, 165-173.
- Couillard, C.M., Leighton, F.A., 1990a. Sequential study of the pathology of prudhoe bay crude oil in chicken embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 19, 17-23.
- Couillard, C.M., Leighton, F.A., 1990b. The toxicopathology of Prudhoe Bay crude oil in chicken embryos. *Fundamental and Applied Toxicology* 14, 30-39.
- Cousillas, A. 1997. Informe Toxicológico. In *Anteproyecto Avanzado Muelle multipropósito tipo "C" (HYTSA Estudios y proyectos S.A.)*, p. 52.
- Crespo-López, M.E., Macedo, G.L., Arrifano, G.P., C., P., Nascimento, J.L., Herculano, A.M., 2011. Genotoxicity of mercury: contributing for the analysis of Amazonian populations. *Environment International* 37, 136-141.
- CSIC, 2003a. Informe técnico CSIC "Prestige". Ministerio de Ciencia y Tecnología-España, 1-5.
- CSIC 2003b. Presencia de metales pesados en la zona de hundimiento del petrolero Prestige y composición de metales y complejantes del fuel emulsionado de la costa. In *Informe técnico CSIC "Prestige"-Número 2*, p. 2.
- Cummins, L.M., Kimura, E.T., 1971. Safety evaluation of selenium sulfide antidandruff shampoos. *Toxicology Applied Pharmacology* 20, 89-96.
- Custer, T.W., Mulhern, B.L., 1983. Heavy metal residues in pre fledgling black-crowned night-herons from three Atlantic coast colonies. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 30, 178-185.
- D'Amelio, S., Cavallero, S., Dronen, N.O., Barros, N.B., Paggi, L., 2012. Two new species of *Contraecum* Railliet & Henry, 1912 (Nematoda: *Anisakidae*), *C. fagerholmi* n. sp. and *C. rudolphii* F from the brown pelican *Pelecanus occidentalis* in the northern Gulf of Mexico. *Systematic Parasitology* 81, 1-16.
- Daniel, O., 1978. A naturally occurring cadmium and zinc binding protein from the liver and kidney of *Fulmarus glacialis*, a pelagic North Atlantic seabird. *Biochemical Pharmacology* 27, 822-824.
- Das, T.K., Mani, V., Kaur, H., Kewalramani, N., De, S., Hossain, A., Banerjee, D., Datta, B.K., 2012. Effect of vitamin E supplementation on arsenic induced oxidative stress in goats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 89, 61-66.
- Day, R.D., Roseneau, D.G., Vander Pol, S.S., Hobson, K.A., Donard, O.F., Pugh, R.S., Moors, A.J., Becker, P.R., 2012. Regional, temporal, and species patterns of mercury in Alaskan seabird eggs: mercury sources and cycling or food web effects? *Environmental Pollution* 166, 226-232.
- Day, R.D., Vander Pol, S.S., Christopher, S.J., Davis, W.C., Pugh, R.S., Simac, K.S., Roseneau, D.G., Becker, P.R., 2006. Murre eggs (*Uria aalge* and *Uria lomvia*) as indicators of mercury contamination in the Alaskan marine environment. *Environment Science Technology* 40, 659-665.
- De Boeck, G., Van der Ven, K., Meeus, W., Blust, R., 2007. Sublethal copper exposure induces respiratory stress in common and gibel carp but not in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology* 144, 380-390.
- Debacker, V., Holsbeek, L., Tapia, G., Gobert, S., Joiris, C., Jauniaux, T., Coignoul, F., Bouqueneau, J., 1997. Ecotoxicological and pathological studies of common

- guillemots *Uria aalge* beached on the Belgian coast during six successive wintering periods (1989-90 to 1994-95). *Diseases of Aquatic Organisms* 29, 159-168.
- Debacker, V., Jauniaux, T., Coignoul, F., Bouquegneau, J.M., 2000. Heavy metals contamination and body condition of wintering guillemots (*Uria aalge*) at the Belgian coast from 1993 to 1998. *Environment Research* 84, 310-317.
- Debacker, V., Rutten, A., Jauniaux, T., Daemers, C., Bouquegneau, J.M., 2001a. Combined effects of experimental heavy-metal contamination (Cu, Zn, and CH₃Hg) and starvation on quail's body condition: parallelism with a wild common guillemot (*Uria aalge*) population found stranded at the Belgian coast. *Biological Trace Elements Research* 82, 87-107.
- Debacker, V., Schiettecatte, L.S., Jauniaux, T., Bouquegneau, J.M., 2001b. Influence of age, sex and body condition on zinc, copper, cadmium and metallothioneins in common guillemots (*Uria aalge*) stranded at the Belgian coast. *Marine Environmental Research* 52, 427-444.
- Degernes, L.A., 2007. Veterinary contributions to wildlife biology: participation in avian field studies in Alaska. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 21, 63-68.
- Delbeke, K., Joiris, C., Decadt, G., 1984. Mercury contamination of the Belgian Avifauna 1970–1981. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical* 7, 205-221.
- Domínguez Conde, J., 2003. Atlas de las aves nidificantes de los archipiélagos de Ons y Cíes (Parque Nacional de las Islas Atlánticas). Organismo Autónomo Parques Nacionales, Madrid, 196 p. p.
- DOUE, 2002. Directiva 96/23/CE del Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados.
- Duncan, K., 2009. Metallothioneins and Related Chelators. *Metal Ions in Life Sciences Vol. 5*. Edited by Astrid Sigel, Helmut Sigel and Roland K. O. Sigel. *Angewandte Chemie International Edition* 48, 7966-7967.
- Durant, J.M., Krasnov, Y.V., Nikolaeva, N.G., Stenseth, N.C., 2012. Within and between species competition in a seabird community: statistical exploration and modeling of time-series data. *Oecologia* 169, 685-694.
- Dziekońska-Rynko, J., Rokicki, J., 2007. Life cycle of the nematode *Contracaecum rudolphii* Hartwig, 1964 (*sensu lato*) from northern Poland under laboratory conditions. *Helminthologia* 44, 95-102.
- Edgar, G.J., Snell, H.L., Loughheed, L.W., 2003. Impacts of the Jessica oil spill: an introduction. *Marine Pollution Bulletin* 47, 273-275.
- Edwards, L.J., Hamilton, S.A., 1995. Errors-in-variables and the Box-Cox transformation. *Computational Statistics Data Analysis* 20, 131-140.
- Eisler, R., 1985. Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates [microform]: a synoptic review / by Ronald Eisler. Fish and Wildlife Service, U.S. Dept. of the Interior, Laurel, MD.
- Eisler, R. 1987. Mercury hazards to fish, wildlife and invertebrates: A synoptic review. In U. S. Fish and Wildlife Service (Laurel, MD 20708), p. 63.
- Eisler, R. 1988. Selenium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. In U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85 (1.5), p. 41.
- Eisler, R., 1998. Copper hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR--1998-0002.
- Eisler, R., 2010. Birds, In: Compendium of Trace Metals and Marine Biota. Elsevier, Amsterdam, pp. 253-361.
- Elvestad, K., Karlog, O., Clausen, B., 1982. Heavy metals (copper, cadmium, lead, mercury) in mute swans from Denmark. *Nordisk Veterinaermedicin* 34, 92-97.
- Elliott, J.E., Scheuhammer, A.M., 1992. Heavy metal and metallothionein concentrations in Atlantic Canadian seabirds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 22, 63-73.
- EPA 1993. R.E.D. FACTS - Iron Salts. In EPA-738-F-93-002 (United States Environmental Protection Agency), p. 4.

- EPA 1997. Mercury Study Report to Congress. In Agency, U.S. Environmental Protection, EPA-452/R-97-005, ed. (United States Environmental Protection Agency), p. 376.
- EPA 2004. Drinking Water Health Advisory for Manganese, EPA-822-R-04-003, ed. (U.S. Environmental Protection Agency), p. 55.
- EPA 2006. Air Quality Criteria for Lead, EPA/600/R-5/144aF, ed. (U.S. Environmental Protection Agency), p. 1251.
- EPA 2007. Aquatic life ambient freshwater quality criteria - Copper. In U.S. Environmental Protection Agency, EPA-822-R-07-001, ed., p. 204.
- Esler, D., Ballachey, B.E., Trust, K.A., Iverson, S.A., Reed, J.A., Miles, A.K., Henderson, J.D., Woodin, B.R., Stegeman, J.J., McAdie, M., Mulcahy, D.M., Wilson, B.W., 2011. Cytochrome P4501A biomarker indication of the timeline of chronic exposure of Barrow's goldeneyes to residual Exxon Valdez oil. *Marine Pollution Bulletin* 62, 609-614.
- Esler, D., Trust, K.A., Ballachey, B.E., Iverson, S.A., Lewis, T.L., Rizzolo, D.J., Mulcahy, D.M., Miles, A.K., Woodin, B.R., Stegeman, J.J., Henderson, J.D., Wilson, B.W., 2010. Cytochrome P4501A biomarker indication of oil exposure in harlequin ducks up to 20 years after the Exxon Valdez oil spill. *Environ Toxicol Chem* 29, 1138-1145.
- Espín, S., Martínez-López, E., Gómez-Ramírez, P., María-Mojica, P., García-Fernández, A.J., 2010. Assessment of organochlorine pesticide exposure in a wintering population of razorbills (*Alca torda*) from the southwestern Mediterranean. *Chemosphere* 80, 1190-1198.
- Espín, S., Martínez-López, E., Gómez-Ramírez, P., María-Mojica, P., García-Fernández, A.J., 2012a. Razorbills (*Alca torda*) as bioindicators of mercury pollution in the southwestern Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 64, 2461-2470.
- Espín, S., Martínez-López, E., María-Mojica, P., García-Fernández, A.J., 2012b. Razorbill (*Alca torda*) feathers as an alternative tool for evaluating exposure to organochlorine pesticides. *Ecotoxicology* 21, 183-190.
- Fagerholm, H.-P., 1988. Patterns of caudal papillae in *Contracecum osculatum* (Nematoda) and some related species from different regions of the world. *International Journal for Parasitology* 18, 1039-1051.
- Fan, Y., Ovesen, J.L., Puga, A., 2012. Long-term exposure to hexavalent chromium inhibits expression of tumor suppressor genes in cultured cells and in mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 26, 188-191.
- FDRL 1984. Acute oral LD50 study of cobalt powder-325 mesh t3N in Sprague Dawley rats. In FDRL Study No. 8005B (Waverly, NY, Food & Drugs Research Laboratories, Inc.).
- Feng, H., Gao, Y., Zhao, L., Wei, Y., Li, Y., Wei, W., Wu, Y., Sun, D., 2013. Biomarkers of renal toxicity caused by exposure to arsenic in drinking water. *Environ Toxicol Pharmacol* 35, 495-501.
- Fernández-Varela, R., Andrade, J.M., Muniátegui, S., Prada, D., Ramírez-Villalobos, F., 2008. Identification of fuel samples from the Prestige wreckage by pattern recognition methods. *Marine Pollution Bulletin* 56, 335-347.
- Fernández-Varela, R., Gómez-Carracedo, M.P., Fresco-Rivera, P., Andrade, J.M., Muniátegui, S., Prada, D., 2006. Monitoring photooxidation of the Prestige's oil spill by attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Talanta* 69, 409-417.
- Fernández-Varela, R., Suárez-Rodríguez, D., Gomez-Carracedo, M.P., Andrade, J.M., Fernández, E., Muniategui, S., Prada, D., 2005. Screening the origin and weathering of oil slicks by attenuated total reflectance mid-IR spectrometry. *Talanta* 68, 116-125.
- Finch, B.E., Wooten, K.J., Faust, D.R., Smith, P.N., 2012. Embryotoxicity of mixtures of weathered crude oil collected from the Gulf of Mexico and Corexit 9500 in mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *The Science of The Total Environment* 426, 155-159.
- Flint, P.L., Fowler, A.C., 1998. A drift experiment to assess the influence of wind on recovery of oiled seabirds on St Paul Island, Alaska. *Marine Pollution Bulletin* 36, 165-166.
- Fodrie, F.J., Heck, K.L., Jr., 2011. Response of coastal fishes to the Gulf of Mexico oil disaster. *PLoS One* 6, e21609.

- Fossi, M.C., Massi, A., Lari, L., Marsili, L., Focardi, S., Leonzio, C., Renzoni, A., 1995. Interspecies differences in mixed function oxidase activity in birds: Relationship between feeding habits, detoxication activities and organochlorine accumulation. *Environmental Pollution* 90, 15-24.
- Franco, M.A., Viñas, L., Soriano, J.A., de Armas, D., González, J.J., Beiras, R., Salas, N., Bayona, J.M., Albaiges, J., 2006. Spatial distribution and ecotoxicity of petroleum hydrocarbons in sediments from the Galicia continental shelf (NW Spain) after the Prestige oil spill. *Marine Pollution Bulletin* 53, 260-271.
- Freire, J., Fernández L., González-Gurriarán E., Muiño, E., 2003. Impacto ambiental de la marea negra del Prestige: efectos sobre los ecosistemas marinos y los recursos pesqueros. Papel de la comunidad científica en la respuesta a la crisis. *Universidade da Coruña*, 64.
- Fry, D.M., Lowenstine, L.J., 1985. Pathology of Common Murres and Cassin's Auklets exposed to oil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 14, 725-737.
- Fujihara, J., Kunito, T., Kubota, R., Tanabe, S., 2003. Arsenic accumulation in livers of pinnipeds, seabirds and sea turtles: subcellular distribution and interaction between arsenobetaine and glycine betaine. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 136, 287-296.
- Fujihara, J., Kunito, T., Kubota, R., Tanaka, H., Tanabe, S., 2004. Arsenic accumulation and distribution in tissues of black-footed albatrosses. *Marine Pollution Bulletin* 48, 1153-1160.
- Furness, R.W., Camphuysen, K., 1997. Seabirds as monitors of the marine environment. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 54, 726-737.
- Gallego Rodríguez, M.E., Hernández Moreno, D., Fidalgo Álvarez, L.E., Rigueiro, L., López Beceiro, A., Soler Rodríguez, F., Pérez López, M., 2007. Niveles de plomo y cadmio en tejido hepático de aves marinas afectadas por el accidente del "Prestige" en Galicia. *Ardeola* 54, 41-51.
- García-Borboroglu, P., Boersma, P.D., Ruoppolo, V., Reyes, L., Rebstock, G.A., Griot, K., Rodrigues Heredia, S., Adornes, A.C., da Silva, R.P., 2006. Chronic oil pollution harms Magellanic penguins in the Southwest Atlantic. *Marine Pollution Bulletin* 52, 193-198.
- García-Rico, L., Robles Burgueño, M.d.R., Valenzuela Soto, E.M., 1999. Las metaloteínas y su relación con la toxicidad del cadmio en los mamíferos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 15, 113-120.
- García, G.B., 2006. El vanadio, un elemento ambiguo. *Acta Toxicológica Argentina* 14, 32-36.
- García, L., Viada, C., Moreno-Opo, R., Carboneras, C., Alcalde, A., F., G. 2003. Impacto de la marea negra del prestige sobre las aves marinas, SEO/BirdLife, ed. (Madrid, Editado por: SEO/BirdLife: www.seo.org).
- García Negro, M.C., Villasante, S., Carballo Penela, A., Rodríguez Rodríguez, G., 2009. Estimating the economic impact of the Prestige oil spill on the Death Coast (NW Spain) fisheries. *Marine Policy* 33, 8-23.
- García Pérez, J.D., 2003. Early socio-political and environmental consequences of the Prestige oil spill in Galicia. *Disasters* 27, 207-223.
- Gardiner, C.H., Poynton, S.L., 1999. An atlas of metazoan parasites in animal tissues. Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology, Washington, D.C.
- Gay, M.L., Belisle, A.A., Patton, J.F., 1980. Quantification of petroleum-type hydrocarbons in avian tissue. *Journal of Chromatography* 187, 153-160.
- Ghatak, S., Biswas, A., Dhali, G.K., Chowdhury, A., Boyer, J.L., Santra, A., 2011. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 251, 59-69.
- Giari, L., Dezfuli, B.S., Lanzoni, M., Castaldelli, G., 2012. The impact of an oil spill on organs of bream *Abramis brama* in the Po River. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 77, 18-27.
- Gibbons, L., 1974. Keys to genera Ascaroidea. In: CIH Keys to the nematode parasites of vertebrates. Anderson, R.C., Chabaud, A.G. & Wilmont, S. (Eds) Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, 42.

- Gil, M., Torres, A., Harvey, M., Esteves, J., 2006. Metales pesados en organismos marinos de la zona costera de la Patagonia argentina continental. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41, 167-176.
- Gochfeld, M., Burger, J., 1987. Heavy metal concentrations in the liver of three duck species: Influence of species and sex. *Environmental Pollution* 45, 1-15.
- Godt, J., Scheidig, F., Grosse-Siestrup, C., Esche, V., Brandenburg, P., Reich, A., Groneberg, D.A., 2006. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* 1, 22.
- Gohlke, J.M., Doke, D., Tipre, M., Leader, M., Fitzgerald, T., 2011. A review of seafood safety after the deepwater horizon blowout. *Environmental Health Perspectives* 119, 1062-1069.
- Golomb, E., Matza, D., Cummings, C.A., Schwalb, H., Kodavanti, U.P., Schneider, A., Houminer, E., Korach, A., Nyska, A., Shapira, O.M., 2012. Myocardial mitochondrial injury induced by pulmonary exposure to particulate matter in rats. *Toxicologic Pathology* 40, 779-788.
- Gómez, G., Baos, R., Gomara, B., Jiménez, B., Benito, V., Montoro, R., Hiraldo, F., González, M.J., 2004. Influence of a mine tailing accident near Donana National Park (Spain) on heavy metals and arsenic accumulation in 14 species of waterfowl (1998 to 2000). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 47, 521-529.
- González, J.J., Viñas, L., Franco, M.A., Fumega, J., Soriano, J.A., Grueiro, G., Muniategui, S., López-Mahía, P., Prada, D., Bayona, J.M., Alzaga, R., Albaiges, J., 2006. Spatial and temporal distribution of dissolved/dispersed aromatic hydrocarbons in seawater in the area affected by the Prestige oil spill. *Marine Pollution Bulletin* 53, 250-259.
- Goodale, M.W., Evers, D.C., Mierzykowski, S.E., Bond, A.L., Burgess, N.M., Otorowski, C.I., Welch, L.J., Hall, C.S., Ellis, J.C., Allen, R.B., Diamond, A.W., Kress, S.W., Taylor, R.J., 2008. Marine foraging birds as bioindicators of mercury in the Gulf of Maine. *Ecohealth* 5, 409-425.
- Goodale, W., Evers, D., Allen, B., Ellis, J., Hall, S., Kress, S., Mierzykowski, S., Welch, L., 2010. Mercury in seabirds in the Gulf of Maine. In *Biodiversity Research Institute*, p. 18.
- Gorsline, J., Holmes, W.N., 1981. Effects of petroleum on adrenocortical activity and on hepatic naphthalene-metabolizing activity in mallard ducks. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 10, 765-777.
- Goutner, V., Albanis, T., Konstantinou, I., Papakonstantinou, K., 2001. PCBs and organochlorine pesticide residues in eggs of Audouin's gull (*Larus audouinii*) in the north-eastern Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin* 42, 377-388.
- Greenpeace 2003. Reporte: "Prestige": Protección a toda costa, p. 65.
- Grueiro-Noche, G., Andrade, J.M., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., Prada-Rodríguez, D., 2010. 3-Way pattern-recognition of PAHs from Galicia (NW Spain) seawater samples after the Prestige's wreck. *Environmental Pollution* 158, 207-214.
- Guilford, T., Freeman, R., Boyle, D., Dean, B., Kirk, H., Phillips, R., Perrins, C., 2011. A dispersive migration in the atlantic puffin and its implications for migratory navigation. *PLoS One* 6, e21336.
- Guinot, D., Urena, R., Pastor, A., Varo, I., del Ramo, J., Torreblanca, A., 2012. Long-term effect of temperature on bioaccumulation of dietary metals and metallothionein induction in *Sparus aurata*. *Chemosphere* 87, 1215-1221.
- Guitart, R., Sachana, M., Caloni, F., Croubels, S., Vandenbroucke, V., Berny, P., 2010. Animal poisoning in Europe. Part 3: Wildlife. *Veterinary Journal* 183, 260-265.
- Ha, M., Lee, W.J., Lee, S., Cheong, H.K., 2008. A literature review on health effects of exposure to oil spill. *Journal of Preventive Medicine and Public Health* 41, 345-354.
- Hall, R.J., Belisle, A.A., Sileo, L., 1983. Residues of petroleum hydrocarbons in tissues of sea turtles exposed to the Ixtoc I oil spill. *Journal of Wildlife Diseases* 19, 106-109.
- Hamilton, S.J., 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of The Total Environment* 326, 1-31.

- Harding, L.E., 1992. Measures of marine environmental quality. *Marine Pollution Bulletin* 25, 23-27.
- Harrison, G.J., Harrison, L.R., Ritchie, B., 1994. *Avian medicine: principles and application*. Wingers Publishing, Lake Worth, 1384 p. p.
- Harrison, P., 1985. *Seabirds: an identification guide*, Rev ed Edition. Christopher Helm, London, 448 p. p.
- Harvey, S., Sharp, P.J., Phillips, J.G., 1982. Influence of ingested petroleum on the reproductive performance and pituitary-gonadal axis of domestic ducks (*Anas platyrhynchos*). *Comparative Biochemistry and Physiology C: Comparative Pharmacology* 72, 83-89.
- Harwell, M.A., Gentile, J.H., 2006. Ecological significance of residual exposures and effects from the Exxon Valdez oil spill. *Integrated Environmental Assessment and Management* 2, 204-246.
- Henny, C.J., Rudis, D.D., Roffe, T.J., Robinson-Wilson, E., 1995. Contaminants and sea ducks in Alaska and the circumpolar region. *Environmental Health Perspectives* 103 Suppl 4, 41-49.
- Hermoso de Mendoza, M., Soler Rodríguez, F., Hernández Moreno, D., Gallego Rodríguez, M.E., López Beceiro, A., Pérez López, M., 2006. Estudio comparativo del nivel hepático de metales pesados y metaloides en aves rapaces diurnas de Galicia y Extremadura. *Revista de Toxicología* 23, 138-145.
- Hernández, L.M., Gomara, G., Fernández, M., Jiménez, B., González, M.J., Baos, R., Hiraldo, F., Ferrer, M., Benito, V., Suner, M.A., Devesa, V., Muñoz, O., Montoro, R., 1999. Accumulation of heavy metals and As in wetland birds in the area around Donana National Park affected by the Aznalcollar toxic spill. *Science of The Total Environment* 242, 293-308.
- Hoffman, D.J., 2002. Role of selenium toxicity and oxidative stress in aquatic birds. *Aquatic Toxicology* 57, 11-26.
- Holmes, P., James, K.A., Levy, L.S., 2009. Is low-level environmental mercury exposure of concern to human health? *Science of The Total Environment* 408, 171-182.
- Holmes, W.N., Cronshaw, J., Gorsline, J., 1978. Some effects of ingested petroleum on seawater-adapted ducks (*Anas platyrhynchos*). *Environmental Research* 17, 177-190.
- Honda, K., Marcovecchio, J.E., Kan, S., Tatsukawa, R., Ogi, H., 1990. Metal concentrations in pelagic seabirds from the North Pacific Ocean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 19, 704-711.
- Hutton, M., 1981. Accumulation of heavy metals and selenium in three seabird species from the United Kingdom. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological* 26, 129-145.
- IBM, 2011. SPSS Inc. v. 20 for Windows - Chicago, 473 p.
- ICES, 2009. Working Group on Seabird ecology. International Council for the Exploration of the Sea, 91.
- Ikemoto, T., Kunito, T., Anan, Y., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N., Tanabe, S., 2004. Association of heavy metals with metallothionein and other proteins in hepatic cytosol of marine mammals and seabirds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 2008-2016.
- INAC, 2010. Heavy Metals. Indian and Northern Affairs - Canada (Northwestern territories contaminants fact sheets), 4.
- Incardona, J.P., Carls, M.G., Day, H.L., Sloan, C.A., Bolton, J.L., Collier, T.K., Scholz, N.L., 2009. Cardiac arrhythmia is the primary response of embryonic Pacific herring (*Clupea pallasii*) exposed to crude oil during weathering. *Environmental Science & Technology* 43, 201-207.
- IOM 2000 Dietary references intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. In Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. National Academy Press. Washintong D.C. (Institute of Medicine).
- IOM 2001. Dietary references intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.

- In Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. National Academy Press. Washington D.C. (Institute of Medicine).
- Jarup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin* 68, 167-182.
- Jaspers, V., Dauwe, T., Pinxten, R., Bervoets, L., Blust, R., Eens, M., 2004. The importance of exogenous contamination on heavy metal levels in bird feathers. A field experiment with free-living great tits, *Parus major*. *Journal of Environmental Monitoring* 6, 356-360.
- Jauniaux, T., Brosens, L., Meire, P., Offringa, H., Coignoul, F., 1998. Pathological investigations on guillemots (*Uria aalge*) stranded on the Belgian coast during the winter of 1993-94. *The Veterinary Record* 143, 387-390.
- Jenkins, D.W. 1980. Biological monitoring of toxic trace metals. Toxic trace metals in plants and animals of the world. Part II. Mercury. In EPA/600/3-80/091 (NTIS PB81103491) (U.S. Environ. Protection Agency. Washington, D.C.).
- Jenssen, B.M., 1994. Review article: effects of oil pollution, chemically treated oil, and cleaning on thermal balance of birds. *Environmental Pollution* 86, 207-215.
- Jernelov, A., 2010. The threats from oil spills: now, then, and in the future. *Ambio* 39, 353-366.
- Jewett, S.C., Dean, T.A., Woodin, B.R., Hoberg, M.K., Stegeman, J.J., 2002. Exposure to hydrocarbons 10 years after the Exxon Valdez oil spill: evidence from cytochrome P4501A expression and biliary FACs in nearshore demersal fishes. *Marine Environmental Research* 54, 21-48.
- Jezequel, R., Menot, L., Merlin, F.X., Prince, R.C., 2003. Natural cleanup of heavy fuel oil on rocks: an in situ experiment. *Marine Pollution Bulletin* 46, 983-990.
- Jihen, E.H., Imed, M., Fátima, H., Abdelhamid, K., 2008. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3522-3527.
- Johansson, A., Lundborg, M., Wiernik, A., Jarstrand, C., Camner, P., 1986. Rabbit alveolar macrophages after long-term inhalation of soluble cobalt. *Environmental Research* 41, 488-496.
- Jones, S.J., 2009. Environmental Toxicology: Aquatic, In: Philip, W. (Ed.) *Information Resources in Toxicology (Fourth Edition)*. Academic Press, San Diego, pp. 203-216.
- Kammerer, M., Mastain, O., Le Drean-Quenech'du, S., Pouliquen, H., Larhantec, M., 2004. Liver and kidney concentrations of vanadium in oiled seabirds after the Erika wreck. *Science of The Total Environment* 333, 295-301.
- Kanarek, G., 2010. Population Biology of *Contracaecum rudolphii Sensu Lato* (Nematoda) in the Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) from Northeastern Poland. *Journal of Parasitology* 97, 185-191.
- Kanarek, G., Bohdanowicz, J., 2009. Larval *Contracaecum sp.* (Nematoda: *Anisakidae*) in the Great Cormorant [*Phalacrocorax carbo* (L., 1758)] from north-eastern Poland: A morphological and morphometric analysis. *Veterinary Parasitology* 166, 90-97.
- Kasowski, M.A., Kasowski, W.J., 1976. Environmental health issues: industrial lead pollution in Toronto. *Canadian Medical Association Journal* 114, 639, 643-636.
- Kelly, M.E., Fitzgerald, S.D., Aulerich, R.J., Balander, R.J., Powell, D.C., Stickle, R.L., Stevens, W., Cray, C., Tempelman, R.J., Bursian, S.J., 1998. Acute effects of lead, steel, tungsten-iron, and tungsten-polymer shot administered to game-farm mallards. *Journal of Wildlife Diseases* 34, 673-687.
- Khan, R.A., 1995. Histopathology in winter flounder, *Pleuronectes americanus*, following chronic exposure to crude oil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 54, 297-301.
- Khan, R.A., Nag, K., 1993. Estimation of hemosiderosis in seabirds and fish exposed to petroleum. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 50, 125-131.
- Khan, R.A., Ryan, P., 1991. Long term effects of crude oil on common murre (*Uria aalge*) following rehabilitation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 46, 216-222.
- Kiaune, L., Singhasemanon, N., 2011. Pesticidal copper (I) oxide: environmental fate and aquatic toxicity. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 213, 1-26.

- Kim, E.Y., Ichihashi, H., Saeki, K., Atrashkevich, G., Tanabe, S., Tatsukawa, R., 1996a. Metal accumulation in tissues of seabirds from Chaun, northeast Siberia, Russia. *Environmental Pollution* 92, 247-252.
- Kim, E.Y., Saeki, K., Tanabe, S., Tanaka, H., Tatsukawa, R., 1996b. Specific accumulation of mercury and selenium in seabirds. *Environmental Pollution* 94, 261-265.
- Klaassen, C.D., Casarett, L.J., Doull, J., Watkins, J.B., 2008. *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. 7th Edition, Editorial McGraw-Hill. New York.
- Klimpel, S., Palm, H., 2011. Anisakid Nematode (*Ascaridoidea*) Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change?, In: Mehlhorn, H. (Ed.) *Progress in Parasitology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 201-222.
- Kojadinovic, J., Bustamante, P., Churlaud, C., Cosson, R.P., Le Corre, M., 2007a. Mercury in seabird feathers: insight on dietary habits and evidence for exposure levels in the western Indian Ocean. *Science of The Total Environment* 384, 194-204.
- Kojadinovic, J., Bustamante, P., Le Corre, M., Cosson, R.P., 2007b. Trace elements in three marine birds breeding on Reunion Island (Western Indian ocean): part 2-factors influencing their detoxification. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 52, 431-440.
- Kojadinovic, J., Le Corre, M., Cosson, R.P., Bustamante, P., 2007c. Trace elements in three marine birds breeding on Reunion Island (Western Indian ocean): part 1-factors influencing their bioaccumulation. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 52, 418-430.
- Kojadinovic, J., Potier, M., Le Corre, M., Cosson, R.P., Bustamante, P., 2007d. Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environmental Pollution* 146, 548-566.
- Kolf-Claw, M., Guénin, A., Pérez López, M., 2007. Micromamíferos y metales pesados: Biomonitorización del medio ambiente. *Observatorio Medio Ambiental* 10, 19-37.
- Korte, F., 1982. Ecotoxicology of cadmium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2, 184-208.
- Köth, T., 1990. Untersuchungen zur Schadstoffbelastung fischfressender Seevögel aus dem Bereich der Deutschen Bucht. Endbericht des Forschungsvorhabens des Landes Niedersachsen Projektleitung: G. Vauk, Norddeutsche Naturschutzakademie, Hof MOhr, 3043. Schneverdingen.
- Kubota, R., Kunito, T., Tanabe, S., 2001. Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. *Environmental Pollution* 115, 303-312.
- Kunito, T., Kubota, R., Fujihara, J., Agusa, T., Tanabe, S., 2008. Arsenic in marine mammals, seabirds, and sea turtles. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 195, 31-69.
- Laffon, B. 2003. Biomonitoring human populations after oil spills: The prestige experience. <http://conference.sea-alarm.org/wp-content/uploads/2007/10/Blanca%20Laffon.pdf>. 17 de mayo 2013.
- Laffon, B., Fraga-Iriso, R., Pérez-Cadahía, B., Méndez, J., 2006. Genotoxicity associated to exposure to Prestige oil during autopsies and cleaning of oil-contaminated birds. *Food and Chemical Toxicology* 44, 1714-1723.
- Lagrang, R., Degraer, S., de Montpellier, G., Jacques, T., Van Roy, W., Schallier, R., 2012. Twenty years of Belgian North Sea aerial surveillance: a quantitative analysis of results confirms effectiveness of international oil pollution legislation. *Marine Pollution Bulletin* 64, 644-652.
- Lance, B.K., Irons, D.B., Kendall, S.J., McDonald, L.L., 2001. An evaluation of marine bird population trends following the Exxon Valdez oil spill, Prince William Sound, Alaska. *Marine Pollution Bulletin* 42, 298-309.
- Lavers, J., Jones, I., Diamond, A.W., 2008a. Age at First Return and Breeding of Razorbills (*Alca torda*) on the Gannet Islands, Labrador and Machias Seal Island, New Brunswick. *Waterbirds* 31, 30-34.
- Lavers, J.L., Jones, I.L., Diamond, A.W., 2007. Natal and Breeding Dispersal of Razorbills (*Alca torda*) in Eastern North America. *Waterbirds* 30, 588-594.

- Lavers, J.L., Jones, I.L., Diamond, A.W., Robertson, G.J., 2008b. Annual survival of North American Razorbills (*Alca torda*) varies with ocean climate indices. *Canadian Journal of Zoology* 86, 51-61.
- Lavers, J.L., Muffar, S.B., I.L., J., 2005. Doubles white lines on the bill of the razorbill (*Alca torda*): Remnants of an association with the extinct great auk penguin *impennis*? *Atlantic seabirds* 7, 103-108.
- Le, N.T., Richardson, D.R., 2002. The role of iron in cell cycle progression and the proliferation of neoplastic cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1603, 31-46.
- Lee, R.F., Anderson, J.W., 2005. Significance of cytochrome P450 system responses and levels of bile fluorescent aromatic compounds in marine wildlife following oil spills. *Marine Pollution Bulletin* 50, 705-723.
- Leighton, F.A., 1985. Morphological lesions in red blood cells from herring gulls and Atlantic puffins ingesting Prudhoe Bay crude oil. *Veterinary Pathology* 22, 393-402.
- Leighton, F.A., 1986. Clinical, gross, and histological findings in herring gulls and Atlantic puffins that ingested Prudhoe Bay crude oil. *Veterinary Pathology* 23, 254-263.
- Leighton, F.A., Peakall, D.B., Butler, R.G., 1983. Heinz-body hemolytic anemia from the ingestion of crude oil: a primary toxic effect in marine birds. *Science* 220, 871-873.
- Lewis, S., Malecki, R., 1984. Effect of egg oiling of Larid productivity and population dynamics. New York Cooperative Wildlife Research unit, Department of Natural Resources, Cornell University, Ithaca, New York 14853 USA, 9.
- Li, A.-X., D'Amelio, S., Paggi, L., He, F., Gasser, R., Lun, Z.-R., Abollo, E., Turchetto, M., Zhu, X.-Q., 2005. Genetic evidence for the existence of sibling species within *Contraecum rudolphii* (Hartwich, 1964) and the validity of *Contraecum septentrionale* (Kreis, 1955) (Nematoda: *Anisakidae*). *Parasitology Research* 96, 361-366.
- Li, L., Xu, Z., Zhang, L.-P., 2013. Further studies on *Contraecum spasskii* Mozgovoi, 1950 and *C. rudolphii* Hartwich, 1964 (*sensu lato*) (Ascaridida: *Anisakidae*) from piscivorous birds in China. *Systematic Parasitology* 84, 225-236.
- Li, P., Feng, X., Qiu, G., 2010. Methylmercury exposure and health effects from rice and fish consumption: a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 7, 2666-2691.
- Lillo, J. 2007. Peligros geoquímicos: Arsénico de origen natural en las aguas. http://www.aulados.net/Temas_ambientales/Peligros_geoquimicos_As/Peligros_As_2.pdf. 16 de mayo, 2013.
- Lin, H., Zhang, X., Dong, J., Li, J., He, R., Peng, B., Xu, Q., Wang, L., Luo, L., 2012. [Effects of zhuhong ointment on mercury cumulation and renal organization modality in skin-impaired model rat]. *China Journal of Chinese Materia Medica* 37, 739-743.
- Lindsay, R.C., Dimmick, R.W., 1983. Mercury residues in wood ducks and wood duck foods in eastern Tennessee. *Journal of Wildlife Diseases* 19, 114-117.
- Liu, X., Li, Z., Han, C., Zhang, Z., Xu, S., 2012. Effects of Dietary Manganese on Cu, Fe, Zn, Ca, Se, IL-1beta, and IL-2 Changes of Immune Organs in Cocks. *Biological Trace Element Research* 148, 336-344.
- Ma, Y., Zhou, T., Kong, X., Hider, R.C., 2012. Chelating agents for the treatment of systemic iron overload. *Current Medicinal Chemistry* 19, 2816-2827.
- MacMahon, B., Trichopoulos, D., 1996. *Epidemiology: principles and methods*, 2nd ed Edition. Little, Brown and Co., Boston, XIII, 347 p. pp.
- Mallory, M.L., Robinson, S.A., Hebert, C.E., Forbes, M.R., 2010. Seabirds as indicators of aquatic ecosystem conditions: a case for gathering multiple proxies of seabird health. *Marine Pollution Bulletin* 60, 7-12.
- Maneiro, M. 2003. A marea negra do Prestige: Os efectos e o seu tratamento. In *Jornada técnica*. Universidade de Santiago de Compostela. 6 de marzo de 2003.
- Martelli, A., Rousselet, E., Dycke, C., Bouron, A., Moulis, J.M., 2006. Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals. *Biochimie* 88, 1807-1814.
- Mattiucci, S., Paoletti, M., Olivero-Verbel, J., Baldiris, R., Arroyo-Salgado, B., Garbin, L., Navone, G., Nascetti, G., 2008. *Contraecum bioccai n. sp.* from the brown pelican

- Pelecanus occidentalis* (L.) in Colombia (Nematoda: *Anisakidae*): morphology, molecular evidence and its genetic relationship with congeners from fish-eating birds. *Systematic Parasitology* 69, 101-121.
- McCarthy, M. 2012. Seabird born in Summer of Love still breeding in Wales <http://www.independent.co.uk/environment/nature/seabird-born-in-summer-of-love-still-breeding-in-wales-863919.html>. 11 diciembre de 2012,
- McGrath, D., Zhang, C., Carton, O.T., 2004. Geostatistical analyses and hazard assessment on soil lead in Silvermines area, Ireland. *Environmental Pollution* 127, 239-248.
- McOrist, S., Lenghaus, C., 1992. Mortalities of little penguins (*Eudyptula minor*) following exposure to crude oil. *The Veterinary Record* 130, 161-162.
- Mead, C., 1997. Conservation biology: Poor prospects for oiled birds. *Nature* 390, 449-450.
- Mearns, A.J. 1974. Toxicity studies of chromium, report, A., ed. (Southern California Coastal Water Research Project - SCCWRP).
- Melo, C., Oliveira, J., Athayde, A., Dantas, A., Feitosa, T., Vilela, V., Menezes, D., Wagner, P., 2012. Identification of parasites in *Puffinus puffinus* (Birds, *Procellariiformes*) from Northeastern Brazil. *Veterinary Research Communications* 36, 235-238.
- Mendes, P., Eira, C., Torres, J., Soares, A.M., Melo, P., Vingada, J., 2008. Toxic element concentration in the Atlantic gannet *Morus bassanus* (Pelecaniformes, Sulidae) in Portugal. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55, 503-509.
- Michel, J.M., 2001. Estimate of total acute mortality to birds resulting from the Chalk Point oil spill, Swanson Creek, Maryland, April 7, 2000. Administrative Record Document I.D. Number 1985.
- Michelutti, N., Blais, J.M., Mallory, M.L., Brash, J., Thienpont, J., Kimpe, L.E., Douglas, M.S.V., Smol, J.P., 2010. Trophic position influences the efficacy of seabirds as metal biovectors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 10543-10548.
- Miller, D.S., Peakall, D.B., Kinter, W.B., 1978. Ingestion of crude oil: sublethal effects in herring gull chicks. *Science* 199, 315-317.
- Mochizuki, M., Ueda, F., Sasaki, S., Hondo, R., 1999. Vanadium contamination and the relation between vanadium and other elements in wild birds. *Environmental Pollution* 106, 249-251.
- Møhlenberg, F., Jensen, A., 1980. The Ecotoxicology of Cadmium in Fresh and Sea Water and Water Pollution with Cadmium in Denmark. National Agency of Environmental Protection, Denmark 42 p.
- Monteiro, C., Amato, J.R., Amato, S., 2011. Helminth parasitism in the Neotropical cormorant, *Phalacrocorax brasilianus*, in Southern Brazil: effect of host size, weight, sex, and maturity state. *Parasitology Research* 109, 849-855.
- Monteiro, L.R., Granadeiro, J.P., Furness, R.W., Oliveira, P., 1999. Contemporary patterns of mercury contamination in the Portuguese Atlantic inferred from mercury concentrations in seabird tissues. *Marine Environmental Research* 47, 137-156.
- Montero, P., Blanco, J., Cabanas, J.M., Maneiro, J., Pazos, Y., Morono, A., 2003. Oil spill monitoring and forecasting on the Prestige-Nassau accident. Unidad de Observación Próxima – CPAM, Vilaxoán, Pontevedra, Spain, 17.
- Montes, H., 2006. Análisis de la catástrofe del Prestige. In: Congreso Internacional de voluntarios SAR y seguridad marítima del Caribe, Escuela Superior de Marina Civil, 14.12.2010, p. 16.
- Morales-Caselles, C., Kalman, J., Riba, I., DelValls, T.A., 2007. Comparing sediment quality in Spanish littoral areas affected by acute (Prestige, 2002) and chronic (Bay of Algeciras) oil spills. *Environmental Pollution* 146, 233-240.
- Moreno, R., Jover, L., Diez, C., Sanpera, C., 2011. Seabird feathers as monitors of the levels and persistence of heavy metal pollution after the Prestige oil spill. *Environmental Pollution* 159, 2454-2460.
- Munilla, I., Arcos, J.M., Oro, D., Álvarez, D., Leyenda, P.M., Velando, A., 2011. Mass mortality of seabirds in the aftermath of the Prestige oil spill. *Ecosphere* 2, art83.

- Murata, K., Yoshida, M., Sakamoto, M., Iwai-Shimada, M., Yaginuma-Sakurai, K., Tatsuta, N., Iwata, T., Karita, K., Nakai, K., 2011. Recent evidence from epidemiological studies on methylmercury toxicity. *Nihon Eiseigaku Zasshi* 66, 682-695.
- Naccari, C., Cristani, M., Cimino, F., Arcoraci, T., Trombetta, D., 2009. Common buzzards (*Buteo buteo*) bio-indicators of heavy metals pollution in Sicily (Italy). *Environmental International* 35, 594-598.
- Nad, P., Skalicka, M., Korenekova, B., 2012. The effects of long-term cadmium exposure in turkeys: accumulation and zinc prevention. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* 47, 1239-1243.
- Nageeb, R. 2001. Biomarkers as indicators of water pollution with heavy metals in rivers, seas and oceans. In *Water (Aswan, South Valley University-Egypt)*, p. 13.
- Nagel, R.L., Ranney, H.M., 1973. Drug-induced oxidative denaturation of hemoglobin. *Seminars in Hematology* 10, 269-278.
- Nakade, T., Tomura, Y., Jin, K., Taniyama, H., Yamamoto, M., Kikkawa, A., Miyagi, K., Uchida, E., Asakawa, M., Mukai, T., Shirasawa, M., Yamaguchi, M., 2005. Lead poisoning in whooper and tundra swans. *Journal of Wildlife Diseases* 41, 253-256.
- Nam, D.-H., Anan, Y., Ikemoto, T., Kim, E.-Y., Tanabe, S., 2005a. Distribution of trace elements in subcellular fractions of three aquatic birds. *Marine Pollution Bulletin* 51, 750-756.
- Nam, D.-H., Anan, Y., Ikemoto, T., Okabe, Y., Kim, E.-Y., Subramanian, A., Saeki, K., Tanabe, S., 2005b. Specific accumulation of 20 trace elements in great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environmental Pollution* 134, 503-514.
- Nam, D.-H., Anan, Y., Ikemoto, T., Tanabe, S., 2005c. Multielemental accumulation and its intracellular distribution in tissues of some aquatic birds. *Marine Pollution Bulletin* 50, 1347-1362.
- Navarro, G., Jerez, S., Marinón, F., Robledanos, F., Motas, M., 2010. Evaluación de la exposición a elementos inorgánicos (Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd y Pb) en cormoranes grandes (*Phalacrocorax carbo sinensis*) de la laguna del mar menor de Murcia. *Anales de Veterinaria (Murcia)* 26, 97-110.
- Neff, J.M., 1997. Ecotoxicology of arsenic in the marine environment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 917-927.
- Neff, J.M., 2002. Bioaccumulation in Marine Organisms, In: Elsevier, Oxford, pp. 319-437.
- Neghab, M., Norouzi, M.A., Choobineh, A., Kardaniyan, M.R., Zadeh, J.H., 2012. Health effects associated with long-term occupational exposure of employees of a chlor-alkali plant to mercury. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics* 18, 97-106.
- Newman, S., Mazet, J., Ziccardi, M., Lieske, C., Fauquier, D., Gardner, I., Zinkl, J., Christopher, M., 1999. Haematological changes and anaemia associated with captivity and petroleum exposure in seabirds. *Comparative Haematology International* 9, 60-67.
- Newman, S.H., Anderson, D.W., Ziccardi, M.H., Trupkiewicz, J.G., Tseng, F.S., Christopher, M.M., Zinkl, J.G., 2000. An experimental soft-release of oil-spill rehabilitated American coots (*Fulica americana*): II. Effects on health and blood parameters. *Environmental Pollution* 107, 295-304.
- 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 Part C: Comparative Pharmacology* 68, 91-94.
- Nishimoto, S., Yamawaki, M., Akiyama, K., Kakinuma, Y., Kitamura, S., Sugahara, T., 2009. Severe abnormalities in the reproductive organs of mice caused by chemical substances contained in heavy oil. *The Journal of Toxicological Sciences* 34, 239-244.
- Noel, L., Guerin, T., Kolf-Clauw, M., 2004. Subchronic dietary exposure of rats to cadmium alters the metabolism of metals essential to bone health. *Food and Chemical Toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 42, 1203-1210.

- Nordberg, G.F., 2009. Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicology and Applied Pharmacology* 238, 192-200.
- Norheim, G., 1987. Levels and interactions of heavy metals in sea birds from Svalbard and the Antarctic. *Environmental Pollution* 47, 83-94.
- Noyes, P.D., McElwee, M.K., Miller, H.D., Clark, B.W., Van Tiem, L.A., Walcott, K.C., Erwin, K.N., Levin, E.D., 2009. The toxicology of climate change: Environmental contaminants in a warming world. *Environment International* 35, 971-986.
- NRC. 1986. Chromium - Environmental and Workplace Health. http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/chromium-chrome/index-eng.php#ref_31. 17 de mayo, 2013.
- NRC. 1994. Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994. The National Academies Press. http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=2114. 17 de mayo, 2013.
- Nystrom, R.R., 1984. Cytological changes occurring in the liver of coturnix quail with an acute arsenic exposure. *Drug and Chemical Toxicology* 7, 587-594.
- Nzengue, Y., Candéias, S.M., Sauvaigo, S., Douki, T., Favier, A., Rachidi, W., Guiraud, P., 2011. The toxicity redox mechanisms of cadmium alone or together with copper and zinc homeostasis alteration: Its redox biomarkers. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 25, 171-180.
- O'Hara, P.D., Morandin, L.A., 2010. Effects of sheens associated with offshore oil and gas development on the feather microstructure of pelagic seabirds. *Marine Pollution Bulletin* 60, 672-678.
- Ochiai, K., Jin, K., Goryo, M., Tsuzuki, T., Itakura, C., 1993. Pathomorphologic findings of lead poisoning in white-fronted geese (*Anser albifrons*). *Veterinary Pathology* 30, 522-528.
- Ochiai, K., Jin, K., Itakura, C., Goryo, M., Yamashita, K., Mizuno, N., Fujinaga, T., Tsuzuki, T., 1992. Pathological study of lead poisoning in whooper swans (*Cygnus cygnus*) in Japan. *Avian diseases* 36, 313-323.
- Odsjo, T., Bignert, A., Olsson, M., Asplund, L., Eriksson, U., Haggberg, L., Litzen, K., de Wit, C., Rappe, C., Aslund, K., 1997. The Swedish Environmental Specimen Bank--application in trend monitoring of mercury and some organohalogenated compounds. *Chemosphere* 34, 2059-2066.
- Ohlendorf, H.M., Harrison, C.S., 1986. Mercury, selenium, cadmium and organochlorines in eggs of three Hawaiian seabird species. *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical* 11, 169-191.
- OIT, 2011. Enciclopedia de salud y seguridad del trabajo. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo - España Metales: propiedades químicas y toxicidad, 63.51.
- Oka, N., Okuyama, M., 2000. Nutritional Status of Dead Oiled Rhinoceros Auklets (*Cerorhinca monocerata*) in the Southern Japan Sea. *Marine Pollution Bulletin* 40, 340-347.
- Okamoto, S., Eltis, L.D., 2011. The biological occurrence and trafficking of cobalt. *Metallomics* 3, 963-970.
- Olanow, C.W., 2004. Manganese-induced parkinsonism and Parkinson's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1012, 209-223.
- Osborn, D., Harris, M.P., Nicholson, J.K., 1979. Comparative tissue distribution of mercury, cadmium and zinc in three species of pelagic seabirds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 64, 61-67.
- Osborn, D., Nicholson, J.K., 1984. Cadmium and mercury in seabirds. Cambridge, NERC/ITE, 30-34. (ITE Symposium, 12).
- Osborne, J., 2010. Improving your data transformation: Applying the Box-Cox transformation. *Practical Assessments, Research and Evaluation* 15, 1-9.
- OSHA. 2011. Occupational Safety and Health Guideline for Chromium III. Occupational Safety and Health Administration. <http://www.osha.gov/SLTC/healthguidelines/chromium3/recognition.html>. 17 de mayo, 2013.

- Otero Pérez, X., 1998. Effects of nesting yellow-legged gulls (*Larus cachinnans* Pallas) on the heavy Metal Content of Soils in the Cíes Islands (Galicia, North-west Spain). *Marine Pollution Bulletin* 36, 267-272.
- Overgaard Nielsen, C., Runedietz, D., 1989. Heavy metals in seabirds in Greenland. *Bioscience* 29, 26.
- Parslow, J.L.F., Jefferies, D.J., French, M.C., 1972. Ingested Pollutants in Puffins and their Eggs. *Bird Study* 19, 18-33.
- Pashin, Y.V., Bakhitova, L.M., 1979. Mutagenic and carcinogenic properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Perspectives* 30, 185-189.
- Patra, P.H., Bandyopadhyay, S., Kumar, R., Datta, B.K., Maji, C., Biswas, S., Dash, J.R., Sar, T.K., Sarkar, S., Manna, S.K., Chakraborty, A.K., Mandal, T.K., 2012. Quantitative imaging of arsenic and its species in goat following long term oral exposure. *Food and Chemical Toxicology* 50, 1946-1950.
- Pattee, O.H., Franson, J.C., 1982. Short-term effects of oil ingestion on American kestrels (*Falco sparverius*). *Journal of Wildlife Diseases* 18, 235-241.
- Peakall, D.B., Tremblay, J., Kinter, W.B., Miller, D.S., 1981. Endocrine dysfunction in seabirds caused by ingested oil. *Environmental Research* 24, 6-14.
- Pearce, P.A., Peakall, D.B., Reynolds, L.M., 1979. Shell thinning and residues of organochlorines and mercury in seabird eggs, Eastern Canada, 1970-76. *Pesticides Monitoring Journal* 13, 61-68.
- Pechova, A., Pavlata, L., 2007. Chromium as an essential nutrient: a review. *Veterinarni Medicina - UZPI* 52(1) p. 1-18.
- Peltier, M.R., Wilcox, C.J., Sharp, D.C., 1998. Technical note: Application of the Box-Cox data transformation to animal science experiments. *Journal of Animal Science* 76, 847-849.
- Penela-Arenaz, M., Bellas, J., Vazquez, E., 2009. Chapter 5. Effects of the Prestige oil spill on the biota of NW Spain: 5 years of learning. *Advances in Marine Biology* 56, 365-396.
- Peña-Vázquez, E., Villanueva-Alonso, J., Bermejo-Barrera, A., Bermejo-Barrera, P., 2006. Arsenic and antimony distribution in the Ria de Arousa: before and after the Prestige oil tanker sinking. *Journal of Environmental Monitoring* 8, 641-648.
- Pérez-López, M., Alonso, J., Novoa-Valiñas, M.C., Melgar, M.J., 2003. Assessment of heavy metal contamination of seawater and marine limpet, *Patella vulgata* L., from Northwest Spain. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* 38, 2845-2856.
- Pérez-López, M., Cid, F., Oropesa, A.L., Fidalgo, L.E., López Beceiro, A., Soler, F., 2006. Heavy metal and arsenic content in seabirds affected by the Prestige oil spill on the Galician coast (NW Spain). *The Science of The Total Environment* 359, 209-220.
- Pérez, C. 2009. Tesis: Señales sexuales y contaminación por petróleo en un ave marina. Departamento de Ecología y Biología Marina (Universidad de Vigo), p. 227.
- Pérez, C., Lores, M., Velando, A., 2010a. Oil pollution increases plasma antioxidants but reduces coloration in a seabird. *Oecologia* 163, 875-884.
- Pérez, C., Munilla, I., López-Alonso, M., Velando, A., 2010b. Sublethal effects on seabirds after the Prestige oil-spill are mirrored in sexual signals. *Biology Letters* 6, 33-35.
- Pérez, C., Velando, A., Munilla, I., López-Alonso, M., Oro, D., 2008. Monitoring polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in the marine environment after the Prestige oil spill by means of seabird blood analysis. *Environmental Science & Technology* 42, 707-713.
- Pérez López, M., Cid Galán, F., Hernández Moreno, D., Oropesa Jiménez, A.L., López Beceiro, A., Fidalgo Álvarez, L.E., Soler Rodríguez, F., 2005. Contenido de metales pesados en hígado y plumas de aves marinas afectadas por el accidente del Prestige en la costa de Galicia. *Revista de Toxicología* 22, 191-199.
- Pérez López, M., Méndez García, M., Alonso Díaz, J., Melgar Riol, M.J., 2004. Evolución temporal de la contaminación por plomo y cadmio en la zona intermareal de la ría de Vigo, Vol 4.
- Pérez López, M., Novoa, M.C., Alonso, J., García Fernández, M.A., Melgar, M.J., 2003. Niveles de plomo y cadmio en agua marina y lapas (*Patella vulgata* L.) de la Ría de Vigo. *Revista de Toxicología*, 19-22.

- Perrins, C., Lloyd, M., 1977. Survival and age at first breeding in the razorbill (*Alca torda*). Bird Banding Summer 48, 239-252.
- Petermann, S., Glunder, G., Heffels-Redmann, U., Hinz, K.H., 1989. [The "diseased" or "dead" guillemots (*Uria aalge*), three-toed gulls (*Rissa tridactyla*), silver gulls (*Larus argentatus*) and laughing gulls (*Larus ridibundus*) found in the area of the German Bay, 1982-1985]. Dtsch Tierarztl Wochenschr 96, 271-277.
- Peterson, C.H., 2001. The "Exxon Valdez" oil spill in Alaska: Acute, indirect and chronic effects on the ecosystem, In: Advances in Marine Biology. Academic Press, pp. 1-103.
- Phillips, D., 1990. Arsenic in aquatic organisms: a review, emphasizing chemical speciation. Aquatic Toxicology 16, 151-186.
- Piatt, J., Anderson, P., 1996. Response of common murrelets to the Exxon Valdez Oil Spill and long-term changes in the Gulf of Alaska marine ecosystem. American Fisheries Society Symposium 18, 720-737.
- Piatt, J., Lensink, C., Butler, W., Kendziorek, M., Nysewander, D., 1990. Immediate Impact of the 'Exxon Valdez' Oil Spill on Marine Birds. The Auk 107, 387-397.
- Piatt, J.F., Van Pelt, T.I., 1997. Mass-mortality of guillemots (*Uria aalge*) in the Gulf of Alaska in 1993. Marine Pollution Bulletin 34, 656-662.
- Pletnikova, I.P., 1970. Biological action and the non-injuriousness level of selenium when it enters the organism together with drinking water. Gigiena y Sanitariya 35, 14-19.
- Poppenga, R.H., 2007. Avian toxicology, In: Ramesh, C.G. (Ed.) Veterinary Toxicology. Academic Press, Oxford, pp. 663-688.
- Porta, M., Casal Lareo, A., Castano-Vinyals, G., 2004. [The impact of the Prestige disaster on human health]. Gaceta Sanitaria 18 Suppl 1, 245-249.
- Pourkhabbaz, A., Khazaei, T., Behraves, S., Ebrahimipour, M., Pourkhabbaz, H., 2011. Effect of Water Hardness on the Toxicity of Cobalt and Nickel to a Freshwater Fish, *Capoeta fusca*. Biomedical and Environmental Sciences 24, 656-660.
- Prado Comesaña, A., 2007. Aves costeiras, 1st Edition. Servizo de Publicación, Deputacion de Pontevedra, Pontevedra, 79 p. p.
- Prego, R., Cobelo-García, A., 2003. Twentieth century overview of heavy metals in the Galician Rias (NW Iberian Peninsula). Environmental Pollution 121, 425-452.
- Prego, R., Santos-Echeandía, J., Cobelo-García, A., 2008. Letter to the editor re: Villares et al., 2007; on the impact of the Prestige oil spill on the levels of vanadium and other trace elements along the coast of Galicia (NW Iberian Peninsula). Science of The Total Environment 399, 216-218; author reply 219-220.
- QN. 2012. Guía Q_N de las aves de España. <http://quedadanatural.net/foro/guia.php?g=aves>. 17 de mayo, 2013.
- Randall, C.J., Reece, R.L., 1996. Color atlas of avian histopathology. Mosby-Wolfe, London, 232 p. p.
- Rattner, B.A., 1981. Tolerance of adult mallards to subacute ingestion of crude petroleum oil. Toxicology Letters 8, 337-342.
- Rattner, B.A., Eroschenko, V.P., Fox, G.A., Fry, D.M., Gorsline, J., 1984. Avian endocrine responses to environmental pollutants. The Journal of Experimental Zoology 232, 683-689.
- Reed, T.E., Kruuk, L.E., Wanless, S., Frederiksen, M., Cunningham, E.J., Harris, M.P., 2008. Reproductive senescence in a long-lived seabird: rates of decline in late-life performance are associated with varying costs of early reproduction. The American Naturalist 171, E89-E101.
- Regular, P.M., Shuhod, F., Power, T., Montevecchi, W.A., Robertson, G.J., Ballam, D., Piatt, J.F., Nakashima, B., 2009. Murrelets, capelin and ocean climate: inter-annual associations across a decadal shift. Environmental Monitoring and Assessment 156, 293-302.
- Reinhart, W.H., Sung, L.P., Chien, S., 1986. Quantitative relationship between Heinz body formation and red blood cell deformability. Blood 68, 1376-1383.
- Ribeiro, A.R., Eira, C., Torres, J., Mendes, P., Miquel, J., Soares, A.M., Vingada, J., 2009. Toxic element concentrations in the Razorbill *Alca torda* (Charadriiformes, Alcidae) in Portugal. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 56, 588-595.

- Rice, S.D., Short, J.W., Carls, M.G., Moles, A., Spies, R.B., 2007. The Exxon Valdez Oil Spill, In: Robert, B.S. (Ed.) Long-term Ecological Change in the Northern Gulf of Alaska. Elsevier, Amsterdam, pp. 419-520.
- Rodríguez-Mercado, J.J., Altamirano-Lozano, M. 2006. Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad (Universidad Nacional Autónoma de México), p. 17.
- Roels, H.A., Bowler, R.M., Kim, Y., Claus Henn, B., Mergler, D., Hoet, P., Gocheva, V.V., Bellinger, D.C., Wright, R.O., Harris, M.G., Chang, Y., Bouchard, M.F., Riojas-Rodriguez, H., Menezes-Filho, J.A., Tellez-Rojo, M.M., 2012. Manganese exposure and cognitive deficits: a growing concern for manganese neurotoxicity. *NeuroToxicology* 33, 872-880.
- Rogalska, J., Pilat-Marcinkiewicz, B., Brzóska, M.M., 2011. Protective effect of zinc against cadmium hepatotoxicity depends on this bioelement intake and level of cadmium exposure: A study in a rat model. *Chemico-Biological Interactions* 193, 191-203.
- Rogowska, J., Namieśnik, J., 2010. Environmental Implications of Oil Spills from Shipping Accidents, In: Whitacre, D.M. (Ed.) Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 206. Springer New York, pp. 95-114.
- Rokicki, J., Sołtysiak, Z., Dziekońska-Rynko, J., Borucińska, J., 2011. Pathology associated with *Contracaecum rudolphii* (Nematoda: Anisakidae) infection in the great cormorant *Phalacrocorax carbo* (L. 1758). *Helminthologia* 48, 29-35.
- Rosa, C., Blake, J.E., Bratton, G.R., Dehn, L.A., Gray, M.J., O'Hara, T.M., 2008. Heavy metal and mineral concentrations and their relationship to histopathological findings in the bowhead whale (*Balaena mysticetus*). *Science of The Total Environment* 399, 165-178.
- Rothman, K.J., 2002. Epidemiología moderna. University Press, Oxford, VIII, 223 pp.
- Rui, P., 1989. A note on the diet of Razorbills *Alca torda* wintering off Portugal. *Seabird group* 12, 11-13.
- S&E, 2002. Toxic metals weigh heavy on birds. *Science and the Environment Bulletin* 28, 1-8.
- Sanpera, C., Valladares, S., Moreno, R., Ruiz, X., Jover, L., 2008. Assessing the effects of the Prestige oil spill on the European shag (*Phalacrocorax aristotelis*): trace elements and stable isotopes. *Science of The Total Environment* 407, 242-249.
- Santos-Echeandía, J., Prego, R., Cobelo-García, A., 2008. Influence of the heavy fuel spill from the Prestige tanker wreckage in the overlying seawater column levels of copper, nickel and vanadium (NE Atlantic ocean). *Journal of Marine Systems* 72, 350-357.
- Santos, D., Milatovic, D., Andrade, V., Batoreu, M.C., Aschner, M., Marreilha dos Santos, A.P., 2012. The inhibitory effect of manganese on acetylcholinesterase activity enhances oxidative stress and neuroinflammation in the rat brain. *Toxicology* 292, 90-98.
- Savinov, V.M., Gabrielsen, G.W., Savinova, T.N., 2003. Cadmium, zinc, copper, arsenic, selenium and mercury in seabirds from the Barents Sea: levels, inter-specific and geographical differences. *Science of The Total Environment* 306, 133-158.
- Sawada, N., Iwasaki, M., Inoue, M., Takachi, R., Sasazuki, S., Yamaji, T., Shimazu, T., Endo, Y., Tsugane, S., 2012. Long-term dietary cadmium intake and cancer incidence. *Epidemiology* 23, 368-376.
- SEO/BirdLife, 2003. La catástrofe del petrolero prestige y su impacto sobre las aves marinas - Tercer informe Enero-Febrero 2003. 44.
- SGO. 2005. El impacto del "Prestige" sobre las aves marinas de Galicia, tres años después. <http://www.sgosgo.org/archivos/informe3anosprestige.pdf>. 16 de mayo, 2013.
- Shamsi, S., Gasser, R.B., Beveridge, I., 2011. Mutation scanning-coupled sequencing of nuclear ribosomal DNA spacers as a tool for the specific identification of different *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) larval types. *Molecular Cellular Probes* 25, 13-18.
- Shamsi, S., Norman, R., Gasser, R., Beveridge, I., 2009. Genetic and morphological evidences for the existence of sibling species within *Contracaecum rudolphii* (Hartwich, 1964) (Nematoda: Anisakidae) in Australia. *Parasitology Research* 105, 529-538.
- Shigenaka, G., 2011. Effects of Oil in the Environment, In: Oil Spill Science and Technology. Gulf Professional Publishing, Boston, pp. 985-1024.

- Simonsen, L.O., Harbak, H., Bennekou, P., 2012. Cobalt metabolism and toxicology-A brief update. *Science of The Total Environment* 432, 210-215.
- Solana-Ortega, A., Solana, V., 2007. What comes after the Prestige disaster? An entropic approach to modeling the recurrence of major oil tanker spills in Galicia. *Risk Analysis* 27, 901-920.
- Sotelo Navalporto, J., 2003. Consecuencias medioambientales derivadas del hundimiento del Prestige en las Rías Baixas gallegas. *Observatorio Medio Ambiental* 6, 195-252.
- StatSoft, I. 2007. STATISTICA (data analysis software system).
- Stattersfield, A.J., Capper, D.R., Dutson, G.C.L., Morrisey, T., 2000. Threatened birds of the world: the official source for birds on the IUCN Red List. BirdLife International, Barcelona, XII, 852 pp.
- Stephens, T. 2013. Historic legacy of lead pollution persists despite regulatory efforts. <http://news.ucsc.edu/2013/02/flegal-aaas.html>. 17 de mayo, 2013.
- Stewart, F.M., Furness, R.W., 1998. The Influence of Age on Cadmium Concentrations in Seabirds. *Environmental Monitoring and Assessment* 50, 159-171.
- Stewart, F.M., Phillips, R.A., Catry, P., Furness, R.W., 1997. Influence of species, age and diet on mercury concentrations in Shetland seabirds. *Marine Ecology Progress Series* 151, 237-244.
- Stewart, F.M., Thompson, D.R., Furness, R.W., Harrison, N., 1994. Seasonal variation in heavy metal levels in tissues of common guillemots, *Uria aalge* from northwest Scotland. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 27, 168-175.
- Suárez, C., Urios, V., 1999. La contaminación por saturnismo en las aves acuáticas del parque natural de "El Hondo" y su relación con los hábitops alimenticios. *Humedales Mediterráneos* 1, 83-90.
- Suris-Regueiro, J.C., Garza-Gil, M.D., Varela-Lafuente, M.M., 2007. The Prestige oil spill and its economic impact on the Galician fishing sector. *Disasters* 31, 201-215.
- Suttle, N.F., 2012. Copper imbalances in ruminants and humans: unexpected common ground. *Advances in Nutrition* 3, 666-674.
- Svensson, L., Grant, P.J., Mullarney, K., Zetterström, D., 2000. Collins bird guide: the most complete field guide to the birds of Britain and Europe. HarperCollins, London, 399 p.
- Szaro, R.C., Dieter, M.P., Heinz, G.H., Ferrell, J.F., 1978. Effects of chronic ingestion of south Louisiana crude oil on mallard ducklings. *Environmental Research* 17, 426-436.
- Szaro, R.C., Hensler, G., Heinz, G.H., 1981. Effects of chronic ingestion of No. 2 fuel oil on mallard ducklings. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 7, 789-799.
- Szostakowska, B., Fagerholm, H.-P., 2012. Coexistence and Genetic Variability of *Contracaecum rudolphii A* and *Contracaecum rudolphii B* (Nematoda: *Anisakidae*) In Cormorants, *Phalacrocorax carbo sinensis*, In the Baltic Region. *Journal of Parasitology* 98, 472-478.
- Taggart, M.A., Green, A.J., Mateo, R., Svanberg, F., Hillström, L., Meharg, A.A., 2009. Metal levels in the bones and livers of globally threatened marbled teal and white-headed duck from El Hondo, Spain. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 1-9.
- Tamis, J.E., Jongbloed, R.H., Karman, C.C., Koops, W., Murk, A.J., 2012. Rational application of chemicals in response to oil spills may reduce environmental damage. *Integrated Environmental Assessment and Management* 8, 231-241.
- Thompson, D.R., Furness, R.W., Barrett, R.T., 1992. Mercury concentrations in seabirds from colonies in the northeast Atlantic. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 23, 383-389.
- Thompson, J., Bannigan, J., 2008. Cadmium: Toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology* 25, 304-315.
- Torres, P., Ortega, J., Schlatter, R., 2005. Nematode parasites of the digestive tract in Neotropical cormorant chicks (*Phalacrocorax brasilianus*) from the River Cruces Ramsar site in southern Chile. *Parasitology Research* 97, 103-107.
- Torres, P., Sierpe, V., Schlatter, R., 1983. Occurrence of *Contracaecum rudolphii* in new hosts in Chile. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 69, 397-399.

- Turner, J.C., Solly, S.R.B., MoI-Krijnen, J.C.M., Shanks, V., 1978. Organochlorine, fluorine and heavy-metal levels in some birds from New Zealand estuaries. *New Zealand Journal of Science* 21, 99-102.
- UE, 2000. Sobre la seguridad marítima del transporte de petróleo. COM (2000) 142 final/2, Bruselas.
- USC. 2012. Sección de ICP - MS. <http://www.usc.es/gl/investigacion/riaidt/analise/icpms.html>. 05 noviembre 2012, 2012.
- USGS, 1999. Field manual of wildlife diseases. National Wildlife Health Center, 438 p.
- Valdiglesias, V., Kilic, G., Costa, C., Amor-Carro, O., Marinas-Pardo, L., Ramos-Barbon, D., Méndez, J., Pasaro, E., Laffon, B., 2012. In vivo genotoxicity assessment in rats exposed to Prestige-like oil by inhalation. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 75, 756-764.
- Varela, M. 2003. Conclusiones Seminario: Efectos económicos, sociais e ambientais da marea negra do "Prestige". In *Efectos económicos, sociais e ambientais da marea negra do "Prestige"* (Santiago de Compostela, Xunta de Galicia), p. 10.
- Velando, A., Freire, J., 1999. Coloniabilidad y conservación de aves marinas: el caso del cormorán moñudo. *Etología* 7, 55-62.
- Vieites, D.R., Nieto-Roman, S., Palanca, A., Ferrer, X., Vences, M., 2004. European Atlantic: the hottest oil spill hotspot worldwide. *Naturwissenschaften* 91, 535-538.
- Villares, R., Real, C., Fernández, J.A., Aboal, J., Carballeira, A., 2007. Use of an environmental specimen bank for evaluating the impact of the Prestige oil spill on the levels of trace elements in two species of *Fucus* on the coast of Galicia (NW Spain). *Sci Total Environ* 374, 379-387.
- Vosloo, D., Sara, J., Vosloo, A., 2012. Acute responses of brown mussel (*Perna perna*) exposed to sub-lethal copper levels: integration of physiological and cellular responses. *Aquatic Toxicology* 106-107, 1-8.
- Votier, S.C., Birkhead, T.R., Oro, D., Trinder, M., Grantham, M.J., Clark, J.A., McCleery, R.H., Hatchwell, B.J., 2008. Recruitment and survival of immature seabirds in relation to oil spills and climate variability. *Journal of Animal Ecology* 77, 974-983.
- Votier, S.C., Hatchwell, B.J., Beckerman, A., McCleery, R.H., Hunter, F.M., Pellatt, J., Trinder, M., Birkhead, T.R., 2005. Oil pollution and climate have wide-scale impacts on seabird demographics. *Ecology Letters* 8, 1157-1164.
- Wade, L. 2008. Toxic Metals. Specialized Care for Avian & Exotic Pets. <http://buffalobirdnerd.com/clients/8963/documents/ToxicMetals.pdf>. 17 de mayo, 2013.
- Wagner, 1999. Sexual size dimorphism and assortative mating in razorbills (*Alca torda*). *The Auk* 116, 542-544.
- Wang, B., Li, Y., Shao, C., Tan, Y., Cai, L., 2012. Cadmium and its epigenetic effects. *Current Medicinal Chemistry* 19, 2611-2620.
- Watanuki, Y., Wanless, S., Harris, M., Lovvorn, J.R., Miyazaki, M., Tanaka, H., Sato, K., 2006. Swim speeds and stroke patterns in wing-propelled divers: a comparison among alcids and a penguin. *Journal of Experimental Biology* 209, 1217-1230.
- Wayland, M., García-Fernández, A.J., Neugebauer, E., Gilchrist, H.G., 2001a. Concentrations of cadmium, mercury and selenium in blood, liver and kidney of common eider ducks from the Canadian arctic. *Environmental Monitoring and Assessment* 71, 255-267.
- Wayland, M., Gilchrist, H.G., Dickson, D.L., Bollinger, T., James, C., Carreno, R.A., Keating, J., 2001b. Trace elements in king eiders and common eiders in the Canadian arctic. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 41, 491-500.
- Webb, P., Bain, C., 2011. *Essential epidemiology : an introduction for students and health professionals*, 2nd ed Edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK, xiv, 445 p. pp.
- Wenzel, C., Adelung, D., 1996. The suitability of oiled guillemots (*Uria aalge*) as monitoring organisms for geographical comparisons of trace element contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 31, 368-377.
- White, J., Wolfe, M. 1997. Earthquakes and oil spills: Lessons from Santa Clara river spill. *International Oil Spill Conference*. University of California Davis, p. 2.

- WHO, 1978. Evaluation of certain food additives and contaminants. (Twenty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). World Health Organization WHO Technical Report Series, No. 631. Geneva, 1978.
- WHO, 2011. Evaluation of certain food additives and contaminants. World Health Organization Technical Report Series, nº 960. Seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, 226 pp.
- Wiemeyer, S., Lamont, T., Locke, L., 1980. Residues of environmental pollutants and necropsy data for Eastern United States ospreys, 1964–1973. *Estuaries* 3, 155-167.
- Wiese, F.K., Ryan, P.C., 2003. The extent of chronic marine oil pollution in southeastern Newfoundland waters assessed through beached bird surveys 1984-1999. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1090-1101.
- Xunta de Galicia, 2003. Informe sobre las actuaciones realizadas por la dirección xeral de conservación da natureza a consecuencia del vertido del buque prestige.
- Xunta de Galicia, 2008. Espacios protegidos para disfrutar la Galicia más natural. Desarrollo Rural - Reportaje fotográfico - Consellería de Medio Ambiente e Desenvolvemento Sostible, 7.
- Yamato, O., Goto, I., Maede, Y., 1996. Hemolytic anemia in wild seaducks caused by marine oil pollution. *Journal of Wildlife Diseases* 32, 381-384.
- Yáñez, L., Carrizales, L., Zanatta, M.T., de Jesús Mejía, J., Batres, L., Díaz-Barriga, F., 1991. Arsenic-cadmium interaction in rats: toxic effects in the heart and tissue metal shifts. *Toxicology* 67, 227-234.
- Yorifuji, T., Tsuda, T., Kashima, S., Takao, S., Harada, M., 2010. Long-term exposure to methylmercury and its effects on hypertension in Minamata. *Environmental Research* 110, 40-46.
- Zabala, J., Zuberogoitia, I., Martínez-Climent, J.A., Etxezarreta, J., 2011. Do long lived seabirds reduce the negative effects of acute pollution on adult survival by skipping breeding? A study with European storm petrels (*Hydrobates pelagicus*) during the "Prestige" oil-spill. *Marine Pollution Bulletin* 62, 109-115.
- Zaccaroni, A., Amorena, M., Naso, B., Castellani, G., Lucisano, A., Stracciari, G.L., 2003. Cadmium, chromium and lead contamination of *Athene noctua*, the little owl, of Bologna and Parma, Italy. *Chemosphere* 52, 1251-1258.
- Zhang, C., Zhang, S., 1996. A robust-symmetric mean: A new way of mean calculation for environmental data. *GeoJournal* 40, 209-212.
- Zhang Chaosheng, Zhang Shen, Licheng, Z., Wang, L., 1995. Background contents of heavy metals in sediments of the Changjiang River system and the calculation methods. *Journal of Environmental Sciences* 7 422.
- Zuberogoitia, I., 2003. Efecto de la marea negra del prestige sobre el halcón peregrino en el país vasco. *Icarus*, 61.
- Zuberogoitia, I., Martínez, J.A., Iraeta, A., Azkona, A., Zabala, J., Jiménez, B., Merino, R., Gómez, G., 2006. Short-term effects of the prestige oil spill on the peregrine falcon (*Falco peregrinus*). *Marine Pollution Bulletin* 52, 1176-1181.

Anexo

Tablas comparativas de los niveles de elementos químicos estudiados comparados con otras publicaciones



Tabla 53. Concentraciones de arsénico en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media PS	D.S. 6 min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	47.04	5.46 – 133.59	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	5.61		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.184	0.092 – 1.051	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	31.05	2.81 – 139.55	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	3.34		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	68.02	3.46 – 275.15	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	0.463	0.073 – 1.346	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	40.14	2.07 – 332.70	Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	4.55		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		1.21 – 2.32	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	6.68		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		1.19-2.95	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	72.35		Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	0.241	0.076 – 0.618	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	31.78	8.21 – 56.51	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	1.64	1.24 – 2.31	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	2.41	0.53 – 4.59	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	46.67	2.02 – 218.44	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	28.43	2.52 – 86.17	Rodríguez Ledesma, 2013
Aguilucho cenizo	<i>(Circus pygargus)</i>	Extremadura, España	Hígado	2.498	ND. - 6.335	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Buitre leonado	<i>(Gyps fulvus)</i>	Extremadura, España	Hígado	4.093	0.473 - 6.304	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Buitre negro	<i>(Aegypius monachus)</i>	Extremadura, España	Hígado	2.996	ND. - 5.482	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Milano real	<i>(Milvus milvus)</i>	Extremadura, España	Hígado	3.758	ND. - 12.24	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Extremadura, España	Hígado	1.063	ND. - 3.183	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Galicia, España	Hígado	5.848	ND. - 71.13	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Azor	<i>(Accipiter gentilis)</i>	Galicia, España	Hígado	1.212	ND. - 3.473	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Cernicalo vulgar	<i>(Falco innunculus)</i>	Galicia, España	Hígado	5.846	ND. - 17.53	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Gavilán	<i>(Accipiter nisus)</i>	Galicia, España	Hígado	1.863	ND. - 5.574	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Doñana, España	Hígado		ND. - 5.39	(Hernández <i>et al.</i> , 1999) ¹³
Varias especies		Doñana, España	Hígado		ND. - 28.7	(Gómez <i>et al.</i> , 2004) ¹³
Varias especies		Doñana, España	Riñón		ND. - 7.3	(Gómez <i>et al.</i> , 2004) ¹³
Cerceta padilla	<i>Marmaronetta angustirostris</i>	El hondo, España	Hígado	0.012	ND. - 0.136	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Malvacia común	<i>Oxyura leucocephala</i>	El hondo, España	Hígado	0.009	ND. - 0.034	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Varias especies		Mar de Barents, Noruega	Hígado		0.13 – 76.8	(Savinov <i>et al.</i> , 2003) ¹⁴

¹³ Estudio temporal, se han tomado valores mínimos y máximos¹⁴ Se han considerado promedios

Tabla 54. Concentraciones de cadmio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media PS	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	3.37	0.73 – 8.52	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	0.655		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.052	ND. – 0.21	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	10.15	1.72 – 34.15	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	6.141		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	7.82	0.77 - 152.77	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	20.65	2.43 - 274.67	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	0.079	ND. - 0.284	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	2.5		(Debacker <i>et al.</i> , 2000) ¹⁵
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	8.45		(Debacker <i>et al.</i> , 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	2.5	ND. – 10.1	(Debacker <i>et al.</i> , 2001b) ¹⁵
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	7	ND. – 39.9	(Debacker <i>et al.</i> , 2001b) ¹⁵
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Hígado	1.95	1.4 – 2.5	(Stewart <i>et al.</i> , 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Riñón	6.65	1.6 – 11.7	(Stewart <i>et al.</i> , 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Hígado	3.1		(Wenzel and Adelung, 1996)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Riñón	24.1		(Wenzel and Adelung, 1996)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	5.4		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	31.3		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		0.752 – 4.259	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		4.045 – 35.209	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	2.318	ND. - 14.78	(Gallego Rodríguez <i>et al.</i> , 2007)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	2.100	0.116 – 5.541	(Gallego Rodríguez <i>et al.</i> , 2007)

¹⁵ Se han considerado promedios

Tabla 54 (cont.). Concentraciones de cadmio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	76.14	50.02 - 133.48	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	204.94	152.46 - 370.93	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	1.526	ND. - 4.870	(Pérez-López et al., 2006)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	2.7	0.78 - 6.33	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	21.89	0.92 - 62.72	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	0.255	0.031 - 0.857	(Gallego Rodríguez et al., 2007)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	0.114	0.033 - 0.279	(Gallego Rodríguez et al., 2007)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		1.6	(Gil et al., 2006)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Riñón		2.4	(Gil et al., 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		1.7	(Gil et al., 2006)
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	2.98	0.86 - 6.41	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	36.19	6.06 - 169.12	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		1.02 - 101.00	(Gil et al., 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Riñón		10.2 - 491.00	(Gil et al., 2006)
Aguilucho cenizo	<i>(Circus pygargus)</i>	Extremadura, España	Hígado	0.107	ND. - 0.331	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Buitre leonado	<i>(Gyps fulvus)</i>	España	Hígado	0.267	0.136 - 0.552	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Buitre negro	<i>(Aegypius monachus)</i>	España	Hígado	0.535	0.215 - 0.985	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Milano real	<i>(Milvus milvus)</i>	España	Hígado	0.274	ND. - 0.853	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	España	Hígado	0.555	0.426 - 0.679	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Galicia, España	Hígado	1.392	ND. - 15.91	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Azor	<i>(Accipiter gentilis)</i>	Galicia, España	Hígado	1.455	0.144 - 4.072	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Cernicalo vulgar	<i>(Falco innunculus)</i>	Galicia, España	Hígado	1.243	ND. - 3.723	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Gavilán	<i>(Accipiter nisus)</i>	Galicia, España	Hígado	0.604	ND. - 1.461	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Pelicano marrón	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Estados Unidos	Hígado	1.8	1.32 - 2.39	(Connors et al., 1972) ¹⁶
Pelicano blanco	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>	Estados Unidos	Hígado	4.97	0.62 - 13.62	(Connors et al., 1972)
Pelicano marrón	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Estados Unidos	Hígado	1.69		(Connors et al., 1972)
Varias especies		Dinamarca	Hígado		1.6 - 11.1	(Overgaard Nielsen and Runedietz, 1989)
Varias especies		Dinamarca	Riñón		3 - 5 veces más que hígado	(Overgaard Nielsen and Runedietz, 1989)
Varias especies		Canadá	Hígado	57.7	3.10 - 259	(Elliott and Scheuhammer, 1992) ¹⁷
Varias especies		Canadá	Riñón	159.73	20.6 - 425	(Elliott and Scheuhammer, 1992)
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Patagonia, Argentina	Hígado	7.91	7.91 ± 7.91	(Gil et al., 2006)
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Patagonia, Argentina	Riñón	49.73	49.73 ± 22.94	(Gil et al., 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Hígado	63.62	63.62 ± 33.09	(Gil et al., 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Riñón	224.19	224.19 ± 173.32	(Gil et al., 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Hígado	1.01		(Gil et al., 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Riñón	10.02		(Gil et al., 2006)

¹⁶ Resultados expresados en peso húmedo¹⁷ Se han considerado los resultados promedio

Tabla 54 (cont.). Concentraciones de cadmio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Argentina	Hígado	1.6		(Gil <i>et al.</i> , 2006) ¹⁸
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	, Argentina	Riñón	2.4		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	, Argentina	Hígado	1.7		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Argentina	Hígado	3.2		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Argentina	Riñón	24		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Estados Unidos	Riñón		2.8 – 95.3	(Henny <i>et al.</i> , 1995) ¹⁹
Varias especies		Doñana, España	Hígado		ND. – 10.78	(Hernández <i>et al.</i> , 1999) ²⁰
Varias especies		Doñana, España	Hígado		ND. – 20.4	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Varias especies		Doñana, España	Riñón		ND. – 60.7	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Japón	Hígado		0.126 – 2.2	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Japón	Riñón		0.195 – 6.29	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Gaviota argéntea	<i>Larus argentatus</i>	Inglaterra	Hígado	1.86		(Nicholson, 1981)
Gaviota argéntea	<i>Larus argentatus</i>	Inglaterra	Riñón	13.7		(Nicholson, 1981)
Varias especies	<i>Varias especies</i>	Inglaterra	Riñón		Max: 480 ppm ps	(Osborn <i>et al.</i> , 1979)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Alemania			0.004 – 88.28	(Wenzel and Adelung, 1996)
Varias especies		Japón	Hígado		1.22 - 22	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Japón	Riñón		2.27 – 66.4	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		3.29 – 66.8	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007d)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		12.6 - 147	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007d)
Varias especies		Noruega	Hígado		0.53 - 109	(Savinov <i>et al.</i> , 2003)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Japón	Hígado		0.126 – 2.2	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Japón	Riñón		0.195 – 6.29	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Gaviota argéntea	<i>Larus argentatus</i>	Inglaterra	Hígado	1.86		(Nicholson, 1981)
Gaviota argéntea	<i>Larus argentatus</i>	Inglaterra	Riñón	13.7		(Nicholson, 1981)
Varias especies		Inglaterra	Riñón		Max: 480 ppm ps	(Osborn <i>et al.</i> , 1979)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Alemania			0.004 – 88.28	(Wenzel and Adelung, 1996)
Varias especies		Japón	Hígado		1.22 - 22	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Japón	Riñón		2.27 – 66.4	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		3.29 – 66.8	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007d)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		12.6 - 147	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007d)
Varias especies		Noruega	Hígado		0.53 - 109	(Savinov <i>et al.</i> , 2003)

¹⁸ Datos expresados en peso húmedo¹⁹ Se han considerado promedios²⁰ Estudio temporal, se han considerado valores mínimos y máximos

Tabla 55. Concentraciones de cobalto en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.43	0.12 - 4.39	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	0.43	0.16 - 2.29	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	0.068		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	0.085		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	0.47	0.11 - 5.86	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	0.53	0.15 - 4.60	Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	0.17		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	0.82		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		0.034 - 0.059	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		0.059 - 0.109	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	0.69	0.23 - 1.32	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	0.93	0.29 - 2.86	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristoteslis</i>	Galicia, España	Hígado	0.32	0.15 - 0.43	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristoteslis</i>	Galicia, España	Riñón	0.95	0.24 - 1.37	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	0.23	0.09 - 0.38	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	0.52	0.16 - 1.32	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		0,09 - 0,18	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)

Tabla 56. Concentraciones de cobre en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	156.23	66.2 - 298.79	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	59.8	25.52 - 146.18	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	23.306		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	18.487		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.993	ND. - 3.234	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	146.92	41.41 - 302.06	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	88.34	38.53 - 227.39	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	1.54	0.257 - 4.115	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	55,675		(Debacker <i>et al.</i> , 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	31.45		(Debacker <i>et al.</i> , 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	52	10 - 152	(Debacker <i>et al.</i> , 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	29.5	1.1 - 76.3	(Debacker <i>et al.</i> , 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Hígado	14.5	12.9 - 16.1	(Stewart <i>et al.</i> , 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Riñón	13.75	12.3 - 15.2	(Stewart <i>et al.</i> , 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Hígado	20		(Wenzel and Adelung, 1996)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Riñón	14.4		(Wenzel and Adelung, 1996)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	44.75		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	80.82		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		17.623 - 25.528	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		15.826 - 23.612	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	139.61	101.32 - 188.76	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	51.96	30.34 - 86.96	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	1.062	0.285 - 2.152	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	83.99	33.56 - 115.62	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	49.93	20 - 90.90	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	36.44		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	23.17		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		14.7	(Gil <i>et al.</i> , 2006) ²¹
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Riñón		4.2	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		6.3	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Riñón		4.1	(Gil <i>et al.</i> , 2006)

²¹ Expresado en peso húmedo

Tabla 56 (cont.): Concentraciones de cobre en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. 6 min-max	Autor
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	134.52	25.05 - 350.68	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	62.1	38.61 - 80.90	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		3.65 - 8.47	(Gil <i>et al.</i> , 2006) ²²
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Riñón		4.34 - 10.20	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pelicano marrón	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Florida, Estados Unidos	Hígado	26.3	18.6 - 48	(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Pelicano blanco	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>	California, Estados Unidos	Hígado	50.5	17.8 - 98	(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Pelicano marrón	<i>Pelecanus occidentalis</i>	California, Estados Unidos	Hígado	20.1		(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	22.48		(Elliott and Scheuhammer, 1992) ²³
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	5.38	5.38 ± 2.08	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	5.92	5.92 ± 2.30	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Hígado	7	7 ± 1.13	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Riñón	6.83	6.83 ± 2.89	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Hígado	3.65		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Riñón	6.06		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Hígado	14.7		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Riñón	4.02		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Hígado	6.3		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Riñón	4.1		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	6.3		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	5.1		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		12 - 345	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Doñana, España	Hígado		13.6 - 498.3	(Hernández <i>et al.</i> , 1999)
Varias especies		Doñana, España	Hígado		2.1 - 1300	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Varias especies		Doñana, España	Riñón		6.82 - 138	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		14.3 - 94.1	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		8.6 - 139	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cerceta padilla	<i>Marmaronetta angustirostris</i>	El hondo, España	Hígado	41.9	3.3 - 105.4	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Malvacia común	<i>Oxyura leucocephala</i>	El hondo, España	Hígado	156.5	14.1 - 751	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		12 - 345	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Japón	Hígado		4.14 - 7.65	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Japón	Riñón		1.66 - 6.10	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		11.1 - 31.5	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		8.55 - 24.2	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Mar de Barents, Noruega	Hígado		15.6 - 446	(Savinov <i>et al.</i> , 2003)

²² Expresado en peso húmedo²³ Se han considerado los promedios

Tabla 57. Concentraciones de cromo en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	2.62	0.11 - 23.70	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	2.27	0.15 - 17.08	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	1.809		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	1.846		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.013	0.001 - 0.075	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	2.28	0.06 - 28.74	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	2.86	0.08 - 20.89	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	0.103	ND. - 0.438	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	0.49		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	1.12		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		3.175 - 3.544	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		3.231 - 3.781	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	0.82	0.38 - 1.75	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	2.59	0.14 - 9.50	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	0.011	ND. - 0.102	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	1.71	0.47 - 3.03	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	1.09	0.05 - 2.40	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	ND.		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	3.71	0.10 - 13.73	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	1.61	0.48 - 3.90	Rodríguez Ledesma, 2013
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Florida, Estados Unidos	Hígado	0.92	0.8 - 1.2	(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Pelicano blanco	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>	California, Estados Unidos	Hígado	1.37	0.7 - 1.8	(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	California, Estados Unidos	Hígado	0.7		(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		0.13 - 1.1	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		0.06 - 2.3	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)

Tabla 58. Concentraciones de hierro en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	4873.95	1584 - 11029.21	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	1043.95	530.78 - 2785.92	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	6987.54	818.93 - 19742.01	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	1191	461.86 - 4230.80	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	3227.5		(Debacker <i>et al.</i> , 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	683		(Debacker <i>et al.</i> , 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	3053	393 - 7946	(Debacker <i>et al.</i> , 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	656	122 - 1759	(Debacker <i>et al.</i> , 1997)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	5736.55		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	814		Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	5468.64	752.61 - 12089.25	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	789.01	240.10 - 1299.44	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	5742.67	2441.46 - 10100.80	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	1221.85	796.07 - 1807.51	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	3496.58	2071.64 - 4356.65	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	1161.36	545.95 - 2065.94	Rodríguez Ledesma, 2013
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	759.4		(Elliott and Scheuhammer, 1992)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		1040 - 20600	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Pacífico norte, Japón	Hígado		144 - 411	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Pacífico norte, Japón	Riñón		107 -	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		1040 - 20600	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		1240 - 4050	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		327 - 539	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)

Tabla 59. Concentraciones de manganeso en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	24.79	14.88 - 43.33	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	23.14	9.86 - 46.82	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	8.562		(Ribeiro et al., 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	6.291		(Ribeiro et al., 2009)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	23.01	10.61 - 44.35	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	25.18	8.04 - 49.55	Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	17.96		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	26.04		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado	11,022	10.208 -11.837	(Mendes et al., 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón	5.99	5.379 – 6.606	(Mendes et al., 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	39.29	20.14 - 54.83	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	13.02	7.91 - 21.53	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	24.92	18.06 - 29.67	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	20.93	15.40 - 27.64	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	20.33	15.02 - 27.95	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	20.82	13.22 - 27.79	Rodríguez Ledesma, 2013
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	10.83	12.9 ± 2.09	(Elliott and Scheuhammer, 1992)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		10.0 - 21	(Henny et al., 1995)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		7.65 – 23.9	(Nam et al., 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		5.44 – 13.6	(Nam et al., 2005b)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		Min.10 - Max.23	(Henny et al., 1995)
Varias especies		Japón	Hígado		2.03 -5.12	(Honda et al., 1990)
Varias especies		Japón	Riñón		1.14 – 3.79	(Honda et al., 1990)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		7.37 – 27.9	(Kojadinovic et al., 2007c)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		6.26 - 733	(Kojadinovic et al., 2007c)

Tabla 60. Concentraciones de mercurio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	8.08	3.31 - 19.53	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	6.3	2.53 - 15.64	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	6.094		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	3.939		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	2.275	ND. - 12.803	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	5.93	2.69 - 11.49	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	5.72	2.46 - 11.85	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	1.208	0.106 - 3.084	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	6.9	0.8 - 35.8	(Debacker <i>et al.</i> , 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	5.15	1 - 23.8	(Debacker <i>et al.</i> , 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	7.2	ND. - 35	(Delbeke <i>et al.</i> , 1984) ²⁴
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	4.4		(Delbeke <i>et al.</i> , 1984)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Hígado	2.3	0.9 - 3.7	(Stewart <i>et al.</i> , 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Riñón	2.35	0.8 - 3.9	(Stewart <i>et al.</i> , 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Hígado	1.9		(Wenzel and Adelung, 1996)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Riñón	1.5		(Wenzel and Adelung, 1996)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	6.26		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	10.02		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		1.291 - 2.603	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		0.952 - 3.423	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	1.613 - 1.888	0.619 - 7.096	(Carbonell <i>et al.</i> , 2007)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	9.04	7.17 - 9.85	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	5.32	4.38 - 7.05	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	1.774	ND. - 3.687	(Pérez-López <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	13.69	6.12 - 25.99	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	8.92	5.45 - 12.43	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	24,365		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	5.36		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	4.246 -7.688	0.854 - 21.029	(Carbonell <i>et al.</i> , 2007)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		1	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		0.9	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	6.94	0.87 - 15.63	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	6.05	1.65 - 10.05	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		0.30 - 1.23	(Gil <i>et al.</i> , 2006)

²⁴ Datos expresados en peso húmedo

Tabla 60 (cont.). Concentraciones de mercurio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Florida, Estados Unidos	Hígado	9.74	5.14 – 17.36	(Connors <i>et al.</i> , 1972) ²⁵
Pelicano blanco	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>	California, Estados Unidos	Hígado	1.54	1.20 – 1.88	(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	California, Estados Unidos	Hígado	4.13		(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	4.06	0.69 – 9.63	(Elliott and Scheuhammer, 1992) ²⁶
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	1.16	1.16 ± 0.68	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	0.36	0.36 ± 0.07	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Hígado	0.89	0.89 ± 0.21	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Hígado	0.3		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Hígado	0.9		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	0.3		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		0.4 - 12	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Pacífico norte, Japón	Hígado		0.53 - 723	(Kim <i>et al.</i> , 1996b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		1.3 - 33	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		0.7 - 39	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Varias especies		Inglaterra	Riñón		Max: 45 ppm p.s.	(Osborn <i>et al.</i> , 1979)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Alemania	Hígado		0.81 – 20.87	(Wenzel and Adelung, 1996)
Pato joyuyo	<i>Aix sponsa</i>	Tennessee, Estados Unidos	Hígado		0.1-1.1	(Lindsay and Dimmick, 1983)
Garza ceniza	<i>Ardea herodias</i>	Ontario, Canadá	Hígado	97	14.6 - 175	(Jenkins, 1980)
Varias especies		Antártida	Hígado		0.5 – 2.9	(Norheim, 1987)
Gaviota argéntarea	<i>Larus argentatus</i>	Dinamarca	Hígado	0.65	0.08 – 2.34	(Elvestad <i>et al.</i> , 1982)
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Florida, Estados Unidos	Hígado	0.75		(Ohlendorf and Harrison, 1986)
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Florida, Estados Unidos	Riñón	0.68		(Ohlendorf and Harrison, 1986)
Huilota	<i>Zenaida macroura</i>	Estados Unidos oriental	Hígado	0.7 – 0.67		(Jenkins, 1980)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		0.4 - 12	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Japón	Hígado		0.07 – 95.4	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Japón	Riñón		0.11 – 8.81	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		0.26 – 24.3	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		0.17 – 24.2	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Mar de Barents, Noruega	Hígado		0.24 – 5.72	(Savinov <i>et al.</i> , 2003)

²⁵ Datos expresados en peso húmedo²⁶ Se han considerado promedios

Tabla 61. Concentraciones de plomo en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.99	ND. - 26.33	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	0.16	ND. - 1.40	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	ND.		(Ribeiro et al., 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	0.254		(Ribeiro et al., 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	1.451	ND. - 13.520	(Pérez-López et al., 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	0.07	ND. - 0.46	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	0.21	ND. - 1.47	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	4.06	0.014 - 18.76	(Pérez-López et al., 2006)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	0.2		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	0.57		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		0.102 - 1.09	(Mendes et al., 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		0.145 - 0.266	(Mendes et al., 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	.036	0,009 - 0,037	(Gallego Rodríguez et al., 2007)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	.033	0,008 - 0,110	(Gallego Rodríguez et al., 2007)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	0.008 - 0.009	0.002 - 0.039	(Carbonell et al., 2007)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	0.2	0.11 - 0.29	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	5.14	0.06 - 25.06	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	1.433	0.022 - 7.433	(Pérez-López et al., 2006)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	0.16	0.13 - 0.18	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	0.1	0.03 - 0.13	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	ND.		(Sanpera et al., 2008)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	.012	ND. - 0,031	(Gallego Rodríguez et al., 2007)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	.016	ND. - 0,032	(Gallego Rodríguez et al., 2007)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	0.005 - 0.006	ND. - 0.022	(Carbonell et al., 2007)
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	0.46	0.04 - 1.92	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	2.82	ND. - 11.36	Rodríguez Ledesma, 2013

Tabla 61 (cont.). Concentraciones de plomo en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Aguilucho cenizo	<i>(Circus pygargus)</i>	Extremadura, España	Hígado	3.105	1.690 - 5.062	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Buitre leonado	<i>(Gyps fulvus)</i>	Extremadura, España	Hígado	3.829	2.399 - 5.217	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Buitre negro	<i>(Aegypius monachus)</i>	Extremadura, España	Hígado	4.443	3.234 - 6.624	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Milano real	<i>(Milvus milvus)</i>	Extremadura, España	Hígado	2.535	ND. - 5.44	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Extremadura, España	Hígado	5.572	3.282 - 7.835	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Galicia, España	Hígado	4.171	ND. - 18.080	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Azor	<i>(Accipiter gentilis)</i>	Galicia, España	Hígado	3.922	1.158 - 6.033	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Cernicalo vulgar	<i>(Falco innunculus)</i>	Galicia, España	Hígado	6.643	1.303 - 11.790	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Gavilán	<i>(Accipiter nisus)</i>	Galicia, España	Hígado	3.029	ND. - 8.875	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	0.35	0.22 - 1.36	(Elliott and Scheuhammer, 1992) ²⁷
Pinguino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	2.21	2.21 ± 1.41	(Gil <i>et al.</i> , 2006) ²⁸
Pinguino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	1.12	1.12 ± 0.71	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Hígado	1.24		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Riñón	0.45		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Hígado	0.45		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	2.1		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	1.2		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Doñana, España	Hígado		ND. - 15.01	(Hernández <i>et al.</i> , 1999)
Varias especies		Doñana, España	Hígado		ND. - 1157	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Varias especies		Doñana, España	Riñón		ND. - 793	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		0.023 - 0.752	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		0.018 - 41.3	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cerceta padilla	<i>Marmaronetta angustirostris</i>	El hondo, España	Hígado	0.45	ND. - 4.78	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Malvacía común	<i>Oxyura leucocephala</i>	El hondo, España	Hígado	16.37	ND. - 59.97	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)

²⁷ Se han considerado promedios²⁸ Datos expresados en peso húmedo

Tabla 62. Concentraciones de selenio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	31.29	13.31 - 66.16	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	56.78	17.89 - 112.75	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	12.755		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	19.072		(Ribeiro <i>et al.</i> , 2009)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	42.43	15.56 - 85.89	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	71.88	27.96 - 184.42	Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	34.56		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	38.56		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		11.173 - 18.060	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		14.484 - 26.124	(Mendes <i>et al.</i> , 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	44.8	23.42 - 62.35	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	72.93	39.07 - 126.58	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	15.43	9.33 - 26.94	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	27.4	6.87 - 64.42	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	9.98		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	5.27		(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Gaviota	<i>Larus cachimans</i>	Galicia, España	Hígado	21.02	3.37 - 50.09	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachimans</i>	Galicia, España	Riñón	39.95	10.83 - 88.02	Rodríguez Ledesma, 2013
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	13.58	9.43 - 27	(Elliott and Scheuhammer, 1992) ²⁹
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		ND. - 77	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Pacífico norte, Japón	Hígado		4.54 - 311	(Kim <i>et al.</i> , 1996b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		4.5 - 18	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		3.3 - 16	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado			(Sanpera <i>et al.</i> , 2008)
Cerceta padilla	<i>Marmaronetta angustirostris</i>	El hondo, España	Hígado	1.47	0.37 - 3.39	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Malvacia común	<i>Oxyura leucocephala</i>	El hondo, España	Hígado	2.08	1.01 - 3.97	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Alemania	Hígado		7.22 - 41.27	(Wenzel and Adelung, 1996)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		12 - 77	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		36.1 - 81.7	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		50.9 - 160	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Mar de Barents, Noruega	Hígado		3.67 - 28.5	(Savinov <i>et al.</i> , 2003)

²⁹ Se han considerado promedios

Tabla 63. Concentraciones de vanadio en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	0.58	0.23 - 1.21	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	0.74	0.20 - 1.51	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Nantes, Francia	Hígado	81±48		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004) ³⁰
Alca	<i>Alca torda</i>	Nantes, Francia	Riñón	57±56		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	0.72	0.22 - 1.95	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	1.04	0.43 - 2.21	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Nantes, Francia	Hígado	77±34		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Nantes, Francia	Riñón	52±36		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Nantes, Francia	Hígado	109±33		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Nantes, Francia	Riñón	42±34		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	0.98		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	1.03		Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	0.63	0.35 - 0.95	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	0.58	0.19 - 1.12	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	0.88	0.39 - 1.26	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	1.32	0.53 - 2.22	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	0.063	0.26 - 1.16	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	1.15	0.34 - 1.74	Rodríguez Ledesma, 2013
Eíder	<i>Somateria mollissima</i>	Nantes, Francia	Hígado	47±37		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Negrón común	<i>Melanitta nigra</i>	Nantes, Francia	Hígado	30±15		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Negrón común	<i>Melanitta nigra</i>	Nantes, Francia	Riñón	72±20		(Kammerer <i>et al.</i> , 2004)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		0.013 – 0.54	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		0.030 – 0.70	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)

³⁰ Datos expresados en ng/g y peso húmedo

Tabla 64. Concentraciones de zinc en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	366.9	151.95 - 779.54	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Riñón	307.19	114.34 - 866.23	Rodríguez Ledesma, 2013
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Hígado	95.191		(Ribeiro et al., 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Aveiro y Peniche, Portugal	Riñón	86.425		(Ribeiro et al., 2009)
Alca	<i>Alca torda</i>	Galicia, España	Hígado	39.42	17.22 - 48.63	(Pérez-López et al., 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	280.05	139.01 - 647.05	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Riñón	436.72	205.77 - 1332.23	Rodríguez Ledesma, 2013
Arao	<i>Uria aalge</i>	Galicia, España	Hígado	73.3	26.7 - 100.2	(Pérez-López et al., 2006)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	155.8		(Debacker et al., 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	174.15		(Debacker et al., 2000)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Hígado	156	66 - 413	(Debacker et al., 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Costa belga, Bélgica	Riñón	171	37 - 286	(Debacker et al., 1997)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Hígado	64.5	58.4 - 69.7	(Stewart et al., 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Escocia	Riñón	66.7	59.3 - 74.1	(Stewart et al., 1994)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Hígado	86.7		(Wenzel and Adlung, 1996)
Arao	<i>Uria aalge</i>	Hornoya, Noruega	Riñón	114		(Wenzel and Adlung, 1996)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Hígado	800.92		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Galicia, España	Riñón	330.22		Rodríguez Ledesma, 2013
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Hígado		140.680 - 256.954	(Mendes et al., 2008)
Alcatraz	<i>Morus bassanus</i>	Ovar y Peniche, Portugal	Riñón		92.457 - 132.443	(Mendes et al., 2008)
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	480.83	268.94 - 633	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Riñón	307.78	231.25 - 500.50	Rodríguez Ledesma, 2013
Frailecillo	<i>Fratercula arctica</i>	Galicia, España	Hígado	27.03	14.92 - 40.22	(Pérez-López et al., 2006)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	600.84	271.01 - 1181.33	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Riñón	202.04	99.20 - 362.34	Rodríguez Ledesma, 2013
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	235.19		(Sanpera et al., 2008)
Cormorán	<i>Phalacrocorax aristotelis</i>	Galicia, España	Hígado	125.17		(Sanpera et al., 2008)
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Hígado	285.63	105.94 - 395	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota	<i>Larus cachinnans</i>	Galicia, España	Riñón	330.43	145.69 - 622.04	Rodríguez Ledesma, 2013
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Hígado		39.70 - 104.00 (*)	(Gil et al., 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Patagonia, Argentina	Riñón		40.90 - 54.90 (*)	(Gil et al., 2006)
Aguilucho cenizo	<i>(Circus pygargus)</i>	Extremadura, España	Hígado	133.71	106.57 - 161.17	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Buitre leonado	<i>(Gyps fulvus)</i>	Extremadura, España	Hígado	134.24	110.58 - 155.34	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)
Buitre negro	<i>(Aegypius monachus)</i>	Extremadura, España	Hígado	155.53	122.38 - 199.26	(Hermoso de Mendoza et al., 2006)

Tabla 64 (cont). Concentraciones de zinc en otros estudios.

Especie	Nombre científico	Lugar	Órgano	Media	D.S. ó min-max	Autor
Milano real	<i>(Milvus milvus)</i>	Extremadura, España	Hígado	142.84	84.50 - 269.58	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Extremadura, España	Hígado	112.23	99.26 - 123.71	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Busardo ratonero	<i>(Buteo buteo)</i>	Galicia, España	Hígado	297.42	87.290 - 597.99	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Azor	<i>(Accipiter gentilis)</i>	Galicia, España	Hígado	174.68	109.330 - 287.41	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Cernicalo vulgar	<i>(Falco innunculus)</i>	Galicia, España	Hígado	242.06	92.330 - 391.78	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Gavilán	<i>(Accipiter nisus)</i>	Galicia, España	Hígado	298.31	113.940 -609.82	(Hermoso de Mendoza <i>et al.</i> , 2006)
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	Florida, Estados Unidos	Hígado	120.9	107.3 – 144.9	(Connors <i>et al.</i> , 1972) ³¹
Pelicano blanco	<i>Pelecanus erythrorhynchos</i>	California, Estados Unidos	Hígado	124.1	79.6 – 171.7	(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Pelicano marron	<i>Pelecanus occidentalis</i>	California, Estados Unidos	Hígado	274.8		(Connors <i>et al.</i> , 1972)
Varias especies		Costa occidental de Canadá	Hígado	113.78		(Elliott and Scheuhammer, 1992)
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	63.35	63.35 ± 39.86	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pingüino de Magallanes	<i>Spheniscus magellanicus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	71.69	71.69 ± 28.35	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Hígado	60.38	60.38 ± 12.82	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto deseado	Riñón	44.28	44.28 ± 1.73	(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Hígado	104.5		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Gaviota cocinera	<i>Larus dominicanus</i>	Puerto Madryn	Riñón	54.9		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Hígado	29.6		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán imperial	<i>Phalacrocorax atriceps</i>	Patagonia, Argentina	Riñón	33.3		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Hígado	50.1		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Cormorán gris	<i>Phalacrocorax gaimardi</i>	Patagonia, Argentina	Riñón	24.2		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Hígado	47		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Pardela oscura	<i>Puffinus griseus</i>	Golfo San Jorge, Argentina	Riñón	65		(Gil <i>et al.</i> , 2006)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		63 - 360	(Henny <i>et al.</i> , 1995) ³²
Varias especies		Doñana, España	Hígado		0.79 - 1084	(Hernández <i>et al.</i> , 1999)
Varias especies		Doñana, España	Hígado		2.9 - 1084	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Varias especies		Doñana, España	Riñón		15.2 - 248	(Gómez <i>et al.</i> , 2004)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Hígado		95.2 - 351	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cormorán gigante	<i>Phalacrocorax carbo</i>	Pacífico norte, Japón	Riñón		64.2 - 163	(Nam <i>et al.</i> , 2005b)
Cerceta padilla	<i>Marmaronetta angustirostris</i>	El hondo, España	Hígado	54.5	31.1 – 120.3	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Malvacía común	<i>Oxyura leucocephala</i>	El hondo, España	Hígado	110.4	98.9 – 229.7	(Taggart <i>et al.</i> , 2009)
Varias especies		Alaska, Estados Unidos	Hígado		63 - 371	(Henny <i>et al.</i> , 1995)
Varias especies		Japón	Hígado		22.8 – 55.8	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Japón	Riñón		12.2 - 49	(Honda <i>et al.</i> , 1990)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Hígado		119 - 528	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Isla Reunión, Francia	Riñón		110 - 241	(Kojadinovic <i>et al.</i> , 2007c)
Varias especies		Mar de Barents, Noruega	Hígado		69.3 - 281	(Savinov <i>et al.</i> , 2003)

³¹ Datos expresados en peso húmedo³² Se han considerado promedios

