

## PLUMA DE ÁGUILA CALZADA (*Hieraaetus pennatus*) COMO UNIDAD BIOMONITORA DE LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL A CADMIO Y PLOMO

Feather of Booted Eagle (*Hieraaetus pennatus*) as biomonitor of environmental exposure to cadmium and lead.

Martínez-López, E.<sup>1</sup>, María-Mójica, P.<sup>1,2</sup>, Martínez, J.E.<sup>3</sup>, Calvo, J.F.<sup>3</sup>, García-Fernández, A.J.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Área de Toxicología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.

<sup>2</sup> Centro de Recuperación de Fauna Silvestre « Santa Faz» (Alicante). Consellería de Medio Ambiente, Generalitat de Valencia.

<sup>3</sup> Dpto. de Ecología, Facultad de Biología, Universidad de Murcia.

\* A quien dirigir la correspondencia: Dr. Antonio Juan García Fernández. Departamento de Ciencias Sociosanitarias. Área de Toxicología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo, 30100 Murcia. Tel. 968-367021; Fax. 968-364317; E-mail: ajgf@um.es

### RESUMEN

La determinación de plomo y cadmio en sangre y tejidos de aves rapaces permite obtener información útil sobre el estado de salud de los individuos, de la especie y del medio ambiente en el que viven. Además su medición sistemática en programas de toxicovigilancia facilita la predicción de riesgos y la toma de decisiones de gestión medioambiental. El presente trabajo tiene como objetivo valorar la utilidad de la pluma de aves rapaces como unidad de monitorización de la exposición a metales pesados (cadmio y plomo) en un ambiente considerado *a priori* como mínimamente contaminado de la Región de Murcia (Sierras de Lavia y Burete, NO de Murcia). Para ello se han tomado muestras de sangre de pollos y plumas de adultos de águila calzada (*Hieraaetus pennatus*) durante la época de cría de los años 1999 y 2000. Previo al análisis de metales en plumas fue preciso optimizar una técnica de lavado de las muestras capaz de eliminar los metales depositados en su superficie. Todas las muestras de sangre, excepto dos, tenían niveles de cadmio y plomo inferiores a 0,5 y 5 µg/dl, respectivamente, lo que es compatible con situaciones de contaminación ambiental de fondo. Las concentraciones en plumas fueron muy inferiores a las indicativas de efecto, con medias de 16,5 y 750 µg/kg para cadmio y plomo, respectivamente. Las correlaciones entre las concentraciones de ambos metales en sangre y plumas fueron significativas al nivel  $p < 0,05$  para el cadmio y de  $p < 0,01$  para el plomo. En conclusión opinamos que la determinación de cadmio y plomo en pluma de águila calzada es útil en los estudios de biomonitorización y toxicovigilancia.

**Palabras clave:** Plomo, cadmio, pluma, rapaces, águila calzada, *Hieraetus pennatus*, contaminación ambiental.

## ABSTRACT

The measurement of lead and cadmium in blood and tissues of raptors allow us to obtain useful information on the health status from the individuals, species and environment. Also, their systematic control in toxicovigilance programs are important in the risk assesment and environmental management. The aim of this study was to evaluate the raptor feathers as biomonitoring units of the environmental exposure to cadmium and lead in an, *a priori*, no-contaminated area from Murcia Region (Lavia and Burte Mountains, NW of Murcia). Blood and feather samples of nestlings and adults, respectively, of booted eagle (*Hieraetus pennatus*) were collected during June and July of 1999 and 2000. In order to eliminate the atmospheric metal deposition on the feather surface and previous to the analytical determination of these metals, an optimised washing process of the fetaher was performed. All blood samples, except two, had cadmium and lead concentrations lower than 0.5 y 5 µg/dl, respectively, being these results compatible with background environmental contamination and exposure. The cadmium and lead concentrations in feathers were also low (16,5 y 750 µg/kg for cadmium and lead, respectively). The relationships between concentrations in blood and feather were significant at level of  $p < 0,05$  for cadmium and  $p < 0,01$  for lead. We concluded that the feather of booted eagles could be considered in the heavy metals biomonitoring and toxicovigilance programs.

**Key words:** Lead, cadmium, feather, raptors, booted eagle, *Hieraetus pennatus*, environmental contamination.

## INTRODUCCIÓN

El uso de las aves como biomonitoras de la contaminación ambiental ha experimentado un destacable auge en los últimos años (García Fernández *et al.*, 1995; Spahn y Sherry, 1999; Dauwe *et al.*, 2000; Wayland *et al.*, 2001). Las rapaces ocupan un apartado especial ya que su posición en las partes más altas de la cadena trófica supone *a priori* un criterio válido para su consideración como unidades biomonitoras, lo que permite además estimar extrapolaciones a otras especies e incluso al ser humano (N.C.R. 1991; García-Fernández *et al.*, 1997; María-Mójica *et al.*, 2000). La precaria situación de supervivencia en que viven muchas de estas especies de rapaces protegidas por la Ley (RD 3181/1980 de 30-12-80, BOE 6 de Marzo de 1981) aumenta el valor de su estudio con vistas a un mejor conocimiento de la situación de los ecosistemas y de su influencia sobre la conservación de estas especies.

Aunque la medida directa de los metales pesados en tejidos internos y sangre de aves es el mejor indicador del grado y tipo de exposi-

ción (García Fernández *et al.*, 1997), desde un punto de vista conservacionista y ético, es necesario diseñar y validar métodos que utilicen muestras cuya obtención sea mínimamente cruenta, pero que a su vez permita la obtención de información suficiente para los fines propuestos. Entre este tipo de muestras se encuentran las plumas, las egagrópilas, los excrementos y los huevos no eclosionados. En concreto, la pluma ha sido evaluada fundamentalmente en especies de aves marinas demostrando su utilidad con el plomo pero con resultados contradictorios con el cadmio (Burger y Gochfeld, 1993; Dauwe *et al.* 2000).

Por otro lado, uno de los problemas de la pluma como biomonitora es la posible contaminación externa por deposición atmosférica y/o por la secreción de las glándulas presentes en la piel (Goede y Bruin, 1984; Goede y de Voogt, 1985; Scheuhammer, 1987; Fasola *et al.*, 1998). La medición de los niveles internos presentes en plumas permite obtener información tanto del grado de exposición como de la distribución interna de los metales. Para conocer estos niveles es necesario llevar a cabo y validar un pro-

ceso de lavado que elimine los metales de la superficie de la pluma, lo cual ha sido realizado en el presente trabajo sobre plumas de águila calzada (*Hieraaetus pennatus*). También se ha estudiado la relación entre los niveles sanguíneos de cadmio y plomo en los pollos con los encontrados en las plumas de sus correspondientes padres.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Con el propósito de poner a punto un buen sistema de limpieza de plumas se realizaron pruebas de lavado con plumas de dos especies distintas, estornino (*Sturnus vulgaris*), y águila calzada (*Hieraaetus pennatus*). Estas muestras fueron recogidas por el personal del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre Santa Faz (Alicante).

Para el estudio de la validez de la pluma como unidad biomonitora se midieron los niveles de metales (plomo y cadmio) en plumas de adultos y sangre de pollos de águila calzada (*Hieraaetus pennatus*). La zona de muestreo se centró en las Sierras de Lavia y Burete y zonas circundantes del Noroeste de la Región de Murcia, que presentaban un censo de águila calzada de 26 parejas y de 21 parejas en 1999 y 2000, respectivamente (Martínez, 2002). Durante los meses de junio y julio de estos años se visitaron los nidos y se recogieron *in situ* muestras de sangre de pollos (n=27) de edades comprendidas entre 35 y 45 días, mediante punción de vena radial. Las muestras de sangre refrigeradas se trasladaron al laboratorio donde fueron almacenadas a -40°C hasta su procesado.

La recolección de plumas de los padres (n=29) se realizó mediante visita e inspección de los nidos durante la época de cría, se guardaron en bolsas de plástico individuales precintadas y se almacenaron en lugar fresco y seco.

### Procesado de las muestras

Para la determinación de los niveles de plomo y cadmio en las muestras de sangre se utili-

zó la metodología descrita por García Fernández *et al.* (1995) que hace uso de la voltamperometría de redisolución anódica, previa digestión ácida a altas temperaturas. Los límites de detección de esta técnica son de 1,225 mg/l para el plomo y de 0,025 mg/l para el cadmio.

Comparamos la eficacia de dos pautas de limpieza externa de las plumas obtenidas a partir de las técnicas de Fasola *et al.* (1998) y Hughes *et al.* (1997) con ligeras modificaciones. El primer proceso consistió en el lavado de la pluma con distintas diluciones de ácido nítrico (2, 10 y 20%) calidad pro-análisis y posterior enjuague por duplicado con agua desionizada. La segunda pauta consistió en tres lavados sucesivos con acetona, uno con Tritón X-100 en una dilución 1/400 (v/v) y finalmente con acetona.

El método de análisis fue validado por García Fernández *et al.* (1995) para distintos tipos de muestras de aves. En el caso particular de las muestras de plumas hemos hecho una ligera modificación de este método teniendo en cuenta diversos factores: la estructura queratinizada de las plumas que complicaba el proceso de digestión ácida a altas temperaturas y el volumen de muestra necesario para su análisis voltamperométrico. Para solucionar ambos problemas se optó por una predigestión de la totalidad de la pluma en recipientes de propietileno de baja densidad con una mezcla de ácidos (nítrico/perclórico/sulfúrico, 8:4:1), a partir de la cual se tomaría una fracción homogénea y representativa, asegurándonos que la cantidad de pluma que se llevaría a digestión oscilaba en torno a 0,1 g y una última digestión ácida similar a la descrita por García Fernández *et al.* (1995) en muestras de sangre. Posteriormente las muestras se analizaron por voltamperimetría de redisolución anódica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Proceso de lavado en plumas

Los niveles de cadmio y plomo determinados en las plumas sometidas a los dos procesos

**Cuadro 1. Comparación de dos métodos de lavado para la determinación de cadmio y plomo (mg/kg, peso seco) en plumas de estornino (*Sturnus vulgaris*) y águila calzada (*Hieraaetus pennatus*)**

	Método 1*		Método 2**	
	Cadmio	Plomo	Cadmio	Plomo
Estornino	110 ± 20	1120 ± 215	120 ± 17	1230 ± 221
Águila calzada	17 ± 5,05	1325 ± 230	14 ± 4,24	1444 ± 270

Los resultados corresponden a la medida ± D.E. de análisis por quintuplicado de cada muestra.

\* Método 1. Modificado a partir de la técnica referida por Fasola *et al.* (1998).

\*\* Método 2. Modificado a partir de la técnica referida por Hughes *et al.* (1997).

**Cuadro 2. Concentraciones de cadmio y plomo en sangre de pollos (µg/dl) y plumas de adultos (µg/kg, peso seco) de águila calzada (*Hieraaetus pennatus*) en 1999 y 2000**

	Plumas				Sangre			
	1999		2000		1999		2000	
	Cadmio (µg/kg)	Plomo (mg/kg)	Cadmio (µg/kg)	Plomo (mg/kg)	Cadmio (µg/dl)	Plomo (µg/dl)	Cadmio (µg/dl)	Plomo (µg/dl)
<b>Media ± D.E.</b>	16,53±8,11	800±300	16,32±9,25	710±270	0,14±0,17	2,85±1,27	0,30±0,38	3,50±2,27
<b>Min-max</b>	0,00-30,99	430-141	6,73-26,64	350-106	0,00-0,38	1,19-4,61	0,00-1,29	1,10-10,57
<b>Mediana (n)</b>	17,06(19)	730(19)	14,04(10)	700(10)	0,00(9)	2,69(9)	0,19(18)	2,84(18)

descritos presentaron las medias que se detallan en el cuadro 1. La comparación de los resultados obtenidos en cada uno de los métodos no mostró diferencias significativas. Teniendo en cuenta que los datos analíticos permitían la utilización indistinta de ambos métodos, optamos por el lavado con acetona y Tritón X-100 diluido basándonos en criterios económicos y de simplicidad del procedimiento.

### Concentración de cadmio y plomo en plumas

Ninguna de las muestras recogidas en los dos años de estudio superaron los 32 µg/kg de cadmio ni los 1,5 mg/kg de plomo (Cuadro 2). Las concentraciones de plomo fueron similares a las encontradas por otros autores en áreas de baja contaminación atmosférica. En garza real

(*Ardea cinerea*) por ejemplo, Spahn y Sherry (1999) encontraron valores de  $0,25 \pm 0,14$  mg/kg de plomo; Dauwe *et al.* (2000) detectaron valores de  $0,51 \pm 0,13$  mg/kg de plomo en muestras de carbonero común (*Parus major*) y de  $0,48 \pm 0,15$  mg/kg en muestras de herrerillo común (*Parus caeruleus*). En el caso del cadmio, los resultados encontrados con anterioridad a nuestro estudio resultan, cuanto menos contradictorios y algunos autores como Dauwe *et al.* (2000), opinan que la pluma sólo puede usarse como biomonitora de la contaminación en el caso del plomo y no del cadmio. Sin embargo, Burger y Gochfeld (2000) hallaron niveles sustanciales de cadmio en distintas especies de aves marinas (47,1-573 mg/kg).

En nuestro caso, ninguno de los valores medios encontrados en las muestras de pluma es

indicativo de efecto tóxico. Así, Burger y Gochfeld (1994) establecieron valores de 4 mg/kg de plomo y de 2 mg/kg de cadmio en plumas como concentraciones relacionadas con distintos desórdenes comportamentales, fisiológicos y alimentarios en las aves.

### Relación entre los niveles de metales en sangre de pollos y plumas de adultos

Los niveles de metales en sangre son frecuentemente utilizados para determinar el tipo de exposición y predecir los efectos en cualquier tipo de especie (Gochfeld *et al.*, 1993; Czachur *et al.*, 1995). Gracias a la cinética compartimental que presentan los metales (García Fernández *et al.*, 1995) podemos, mediante su estudio en sangre y tejidos internos, estimar si estamos ante un tipo de exposición aguda, crónica o una exposición de base. En nuestro estudio los niveles de cadmio en sangre de pollos oscilaron desde 0 a 1,29 µg/dl, mientras que las concentraciones de plomo estaban por debajo de 5 µg/dl excepto en dos individuos. La American Conference of Governmental Industrial Hygienist (A.C.G.I.H., 1994) estableció concentraciones de cadmio por debajo de 0,5 µg/dl como de exposición normal para humanos. Scheuhammer (1989) describió el rango de 4,8 ± 3,3 µg/dl de plomo como rango típico en aves no expuestas. Los bajos niveles de ambos metales obtenidos tanto en las muestras de sangre como en las de plumas confirmaron la consideración previa de baja contaminación que soporta la zona de estudio.

Con el fin de determinar si también las muestras de plumas de los padres pueden ofrecer información útil sobre el grado de exposición a metales pesados, se estudió la relación existente entre ambos tipos de muestras. Para ello se realizó un análisis estadístico mediante el estudio de correlación de *Pearson* estableciendo un nivel mínimo de significación de  $p < 0,05$ . Se observaron correlaciones positivas en cadmio y plomo en los dos años de muestreo. En el caso

del cadmio los resultados fueron  $r=0,811$ ,  $p < 0,05$  (1999) y  $r=0,898$ ,  $p < 0,01$  (2000); mientras que para el plomo  $r=0,919$ ,  $p < 0,01$  (1999);  $r=0,827$ ,  $p < 0,01$  (2000). Estas correlaciones son similares, y en algunos casos superiores, a las encontradas entre sangre y tejidos internos (hígado, riñón y encéfalo) de rapaces y otras especies de aves (García Fernández *et al.*, 1996, 1997). Ante estos resultados y teniendo en cuenta la dificultad de trabajar con muestras de campo podemos concluir que las plumas de águila calzada son capaces de ofrecer información de la exposición a la que está sometida esta especie y por tanto pueden ser usadas como herramienta en el estudio de la monitorización y gestión ambiental. Sin embargo, esta premisa sólo es válida cuando se poseen los suficientes datos rigurosos y contrastados obtenidos sobre sangre y tejidos internos.

### AGRADECIMIENTOS

A la CICYT/FEDER por la financiación del proyecto BCM 2000-0284 y a la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la Región de Murcia por la financiación del proyecto «Inventario de aves rapaces forestales». A M. Motas, I. Pagán, S. Morán y O. Miranda por su inestimable colaboración en el muestreo.

### BIBLIOGRAFÍA

- ACGIH. 1994. (American Conference of Governmental Industrial Hygienists). Threshold limit values and biological exposure indices for 1993-1994.
- Burger J., Gochfeld M. 1993. Lead and behavioral development in young herring gulls: effects of timing of exposure on individual recognition. *Fundam Appl Toxicol*, 21. 187-195.
- Burger J., Gochfeld M. 1994. Behavioral impairments of lead-injected young herring gulls in nature. *Fundam Appl Toxicol*, 23. 553-561.

- Burger J., Gochfeld M. 2000. Metals levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *The Science of the Total Environment* 257, 37-52.
- Czachur M., Zachur M., Stanbury M., Gerwel B., Gochfeld M., Rhoads C.G. Wartenberg D. 1995. A pilot study of take-home lead exposure in New Jersey. *Am J Ind Med* 28:289-293.
- Dauwe T., Bervoets L., Blust R., Pinxten R., Eens M. 2000. Can excrement and feathers of nestling songbirds be used as biomonitors for heavy metal pollution?. *Arch Environ. Contam. Toxicol.* 39,541-546.
- Fasola M., Movalli P.A., Gandini C. 1998. Heavy metal, organochlorine pesticide, and PCB residues in eggs and feathers of heron breeding in northern Italy. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 87-93.
- García-Fernández A.J., Sánchez-García J.A., Jimenez-Montalban P., Luna A. 1995. Lead and cadmium in wild birds in sotheastern Spain. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14: 2049-2058
- García -Fernández A.J., Sanchez-García J.A., Gómez-Zapata M., Luna A. 1996. Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. *Arch Environ Contam Toxicol.* 30: 252-258.
- García-Fernández A.J., Motas-Guzman M., Navaz I., María-Mójica P., Luna A., Sánchez-García J.A. 1997. Environmental exposure and distribution of lead in four species of raptors in southeastern Spain. *Arch Environ Contam Toxicol.* 33: 76-82
- Gochfeld M., Udasin I., Favata E., Buckler G., Natarelli C., Burger J. 1993. Temporal changes in blood lead levels of hazardous waste workers in New Jersey, 1984-1987. *Environ Monit Asses* 25: 99-107.
- Goede A.A., DeBruin M. 1984. The use of bird feathers parts as a monitor for metal pollution. *Environ Pollut.* 8: 281-289.
- Goede AA., De Voogt P. 1985. Lead and cadmium in waders from the Dutch Wadden sea. *Environ Pollut*, 37: 311-322.
- Hughes K.D., Ewins P.J., Clark K.E. 1997. A comparison of mercury levels in feathers and eggs of osprey (*Pandion haliaetus*) in the North American Great lakes. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33: 441-452.
- María-Mójica P., Jimenez P., Barba A., Navas I., García-Fernández A.J. 2000. Residuos de insecticidas organoclorados en Cernicalo Común (*Falco tinnuculus*) de la Región de Murcia. *An. Vet. (Murcia)* 16:55-66.
- Martínez J.E. 2002. Ecología del Águila Calzada (*Hieraaetus pennatus*) en ambientes mediterráneos. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- N.R.C. (National Research Council). 1991. Animals as sentinels of environmental health hazards. National Academis Press, Washington, D.C.
- Scheuhammer A.M. 1987. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: a review. *Environ Pollut.* 46: 263-295.
- Scheuhammer A.M. 1989. Monitoring wild bird populations for lead exposure. *J. Wildl. Manag.* 53: 759-765.
- Spahn S.A., Sherry T.W. 1999. Cadmium and lead exposure associated with reduced growth rates, poorer fledging suces of little blue heron chicks (*Egretta caerulea*) in south Louisiana wetlands. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37:337-384.
- Wayland M. García-Fernández A.J. Neugebauer E., Gilchrist H.G. 2001. Concentrations of Cadmium, Mercury and Selenium in Blood, Liver and Kidney of Common Eider Ducks from the Canadian Arctic. *Environ. Monit. Asses.* 71:255-267.