



## 2. - MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. - LOCALIDADES ESTUDIADAS Y CRITERIOS DE SELECCIÓN

El estudio se llevó a cabo en las siguientes localidades:

Parque Natural del Delta de l'Ebre (T), Parque Natural de l'Albufera de València (V), Paraje Natural de El Fondo (A), Parque Nacional de las Tablas de Daimiel (CR) y Parque Nacional de Doñana (H/SE) (*Figura 2.1*). Estas localidades poseen una elevada importancia para la invernada de aves acuáticas en nuestro país, lo que queda ilustrado por el hecho de que, en el último Censo Invernal de Aves Acuáticas publicado (Troya y Bernués, 1990), correspondiente a 1989, las cinco localidades acogían aproximadamente al 50% de las anátidas y fochas invernantes (*Tabla 2.1*).

**Tabla 2.1.-** Censo de las especies de anátidas y fochas incluidas en este estudio en 1989 (Troya y Bernués, 1990)

Especie	Zona					
	D. Ebre	A. València	El Fondo	T. Daimiel	Doñana	España
A. anser	76	--	--	14	71191	89942
A. penelope	6363	1950	--	95	42	126512
A. strepera	1919	10	--	--	--	14044
A. crecca	8139	2370	50	1700	159110	203900
A. platyrhynchos	42822	2100	5	11400	1252	192038
A. acuta	501	4220	450	125	17600	27435
A. clypeata	13660	20296	1600	1800	--	139710
A. querquedula	--	--	--	--	--	5
Anas spp.	--	--	--	--	42200	42488
M. angustirostris	--	--	4	--	230	234
N. rufina	3019	11110	2	120	5010	21747
A. ferina	495	5700	2400	2250	2065	58586
A. fuligula	195	--	6	15	110	4659
O. leucocephala	--	--	--	--	6	433
F. atra	17097	--	5862	7700	54760	143809

Asimismo, las áreas escogidas tienen características que, dada la ausencia de información existente sobre las tasas de acumulación de perdigones de caza en los sedimentos de las zonas húmedas de la cuenca mediterránea española, con la única excepción del Delta de l'Ebre, hacen que su estudio sea urgente, de cara a cuantificar

el riesgo potencial que dichos acúmulos representan para las aves acuáticas (Pain, 1991a). Estas características pueden resumirse en los siguientes puntos:

\* **Son áreas de Importancia Internacional para las Aves.** Figuran en el Listado del Convenio Ramsar y están declaradas como áreas ZEPA (Zona Especial de Protección para las Aves; Directiva Europea 79/409 CEE). Cabe resaltar que las cinco zonas gozan de una figura de protección concedida por los gobiernos estatal o autonómico.

\* **Soportan una elevada presión cinegética.** Algunas han sido explotadas cinegéticamente desde hace siglos hasta la actualidad, siendo muy probable la existencia, a priori, de densidades elevadas de perdigones en sus sedimentos, condicionando, por tanto, un alto riesgo de ingestión de los mismos por parte de las aves que las utilizan en las diferentes épocas del año.

En el caso del P.N. de las Tablas de Daimiel, área en la que está prohibida la caza desde hace varias décadas, su inclusión en el estudio se justifica como localidad control: la ausencia de aportes recientes de perdigones hace suponer que sus sedimentos, así como sus aves sedentarias, poseerán unos niveles mínimos de contaminación, siendo de interés su comparación con los resultados obtenidos en las restantes zonas.

\* **Poseen unas características ecológicas similares** a otras zonas en las que se ha detectado una elevada incidencia de la problemática derivada de la ingestión de perdigones por las aves acuáticas (como sería el caso de La Camarga, en Francia), compartiendo factores como la poca disponibilidad de arenas de cierto grosor, necesarias para la trituración de los alimentos en las mollejas de las aves.

\* En cuatro de las cinco zonas **existe una ausencia de datos epidemiológicos fiables** sobre la intoxicación por plomo en aves acuáticas. En el caso del P. N. del Delta de l'Ebre, estos datos epidemiológicos sólo se establecieron en su momento para el caso del Ánade Real (Guitart *et al.* , 1994) .



**Figura 2.1** .- Áreas estudiadas para determinar la problemática del *plumbismo en aves acuáticas*.

A continuación se detallan las características generales principales de las zonas estudiadas:

### **Parque Natural del Delta de 1,Ebre (T)**

El Delta de 1,Ebre, situado al sur de la provincia de Tarragona (*Figura 2.2*), es una de las principales zonas húmedas de la cuenca mediterránea, y su importancia ornitológica ha estado reconocida en diversas ocasiones (Folch i Guillén, 1988). Actualmente parte de su superficie de 32.000 ha está protegida bajo el estatuto de Parque Natural, concretamente 7.736 ha. Debido a su condición hidrológica especial y su situación geográfica, tiene una importante y diversa población de aves, estimada en unos 180.000 individuos en el período invernal y con 311 especies diferentes observadas en la zona (Martínez-Vilalta *et al.* , 1989). Se le considera el segundo cuartel de invernada de anátidas y fochas numéricamente más importante de la Península Ibérica, sólo superado por el Parque Nacional de Doñana. La gran mayoría de la superficie del delta está dedicada a la agricultura (24.000 ha), principalmente al cultivo del arroz (19.000 ha). Con todo, las actividades agrícolas en la zona son relativamente recientes, ya que hasta la mitad del siglo pasado el Delta de l'Ebre era una zona de marisma, sin ninguna implantación humana considerable (Folch i Guillén, 1988).

La caza es una actividad tradicional muy arraigada en la zona del Delta de l'Ebre, y ésta se limita básicamente a patos y fochas, ya que es objeto de una reglamentación estricta (Folch i Guillén, 1988). En todo el Delta de l'Ebre, se captura una media de 30.000-40.000 aves cada temporada: en concreto, los datos de la temporada de caza 1987/88 fueron de: 30.000 patos, 6.400 Fochas Comunes, 3.000 Agachadizas Comunes y 4.500 Pollas de Agua *Gallinula chloropus* (Martínez-Vilalta, datos no publicados).

### **Parque Natural de l'Albufera de Valencia (V)**

El P. N. de L'Albufera de Valencia (*Figura 2.3*), tiene una superficie de 21.120 ha, de las cuales 2.837 corresponden al lago propiamente dicho; los arrozales circundantes representan alrededor de 15.000 ha, correspondiendo las restantes a la restinga litoral. A grandes rasgos, el conjunto puede definirse como una laguna litoral dulceacuícola eutrófica y de profundidad media inferior al metro, separada del mar por una restinga que presenta una cobertura vegetal muy diversa, y rodeada por una extensa orla de terrenos ganados al lago y dedicados al cultivo del arroz.

Más de 250 especies orniticas utilizan el Parque y cerca de 90 se reproducen en él. El grupo de aves más numeroso durante el invierno es el de las anátidas, concentrándose en la zona entre 30.000-60.000 ejemplares. Una de las especies más numerosas es el Pato Colorado, con unas 10.000-17.000 aves, lo que actualmente convierte esta zona húmeda en el lugar de invernada más importante de Europa Occidental para esta especie.

La caza es una actividad tradicional muy arraigada y cuya práctica en la zona está documentada desde hace siglos. Los cotos de caza abarcan 13.259 ha de arrozales, de las cuales 4.200 corresponden a vedados. El régimen de explotación cinegética es diferente en cotos y vedados, siendo más intenso en los primeros. Se estima que el número de cazadores en la zona supera los 6.500 (Generalitat Valenciana, 1991).

Debido a la tranquilidad y buenas condiciones para la búsqueda de alimentos que presentan, la mayoría de las anátidas se concentran, en los vedados, especialmente en los del Coto de Sueca.

### **Paraje Natural de El Hondo (A)**

El Paraje Natural de El Fondo (*Figura 2.4*) posee una superficie de unas 2.387 ha, cubriendo parte de los terrenos que conformaban la antigua Albufera de Elche. En la misma área pueden distinguirse dos ambientes diferentes: el conjunto de embalses y charcas de aguas dulces y salobres -provenientes del Segura o de la escorrentía de los terrenos circundantes-, que presentan una gran cobertura de helófitos palustres, y los saladares periféricos.

El Paraje es frecuentado por más de 175 especies de aves, varias de las cuales están consideradas en peligro de extinción. Esta zona acoge durante la invernada a 5.000-15.000 anátidas y fochas, siendo las especies más cazadas, por orden de importancia: Pato Cuchara, Focha Común y Porrón Común.

Los embalses, de origen semiartificial, presentan aguas eutróficas usadas para fines agrícolas. Estos embalses son explotados cinegéticamente desde hace décadas mediante el régimen de tiradas desde puestos fijos (adjudicados por subasta), en las que participan alrededor de 250 escopetas.

### **Parque Nacional de las Tablas de Daimiel (CR)**

El Parque Nacional de las Tablas de Daimiel (*Figura 2.5*), con una superficie de 1.928 ha, y situado en la confluencia de los ríos Guadiana y Cigüela, está constituido por un humedal característico de la llanura central de la Península Ibérica: las Tablas fluviales. Estas pueden definirse someramente como superficies de desbordamiento de los tramos medios de los ríos, producidos por la escasez de desniveles del terreno, que favorecen el desarrollo de una cubierta vegetal diversa (Sánchez y Moral, 1991), dando lugar a un característico mosaico formado por la alternancia de masas de helófitos y láminas de aguas libres.

La importancia de las Tablas de Daimiel para las aves acuáticas es conocida desde hace largo tiempo, llegando a albergar, a principios de la década de los ochenta, unos máximos de 50.000 anátidas invernantes. Posteriormente, debido a la sobreexplotación del Acuífero 23, con el que las Tablas se hallan estrechamente relacionadas, se produjo una grave alteración del funcionamiento hídrico de las mismas, perdiendo gran parte de su valor para la invernada de acuáticas. Recientemente, la puesta en marcha del Plan de Regeneración Hídrica de P.N. de las Tablas de Daimiel, ha permitido una ligera recuperación de los efectivos de anátidas invernantes en la localidad.

La explotación cinegética de las Tablas se inicia a mediados del siglo pasado, convirtiéndose rápidamente en un cazadero de gran importancia. A mediados del presente siglo se entabla una polémica acerca de si las tierras encharcadas eran de dominio público o privado. Esta polémica se zanja con la prohibición de la caza en 1959, realizándose, no obstante, la última tirada en 1963 (M. Carrasco, comunicación personal).

### **Parque Nacional de Doñana (H/SE)**

El P. N. de Doñana (*Figura 2.6*) cubre una superficie de 50.720 ha, complementadas por terrenos periféricos (26.540 ha) sometidos a otras figuras de protección y se halla situado en el extremo sureste del acuífero del estuario del Guadalquivir (Bernués, 1990). La marisma actual representa una pequeña porción de lo que antaño fue un sistema mucho más extenso y que se ha visto reducido debido a diversas transformaciones. En él se pueden distinguir varios ambientes definidos. Por un lado la marisma, constituida por materiales impermeables, que presenta un régimen de inundación anual. Por otro, las dunas del cordón litoral y la vera, periférico a la marisma, constituidas ambas por materiales permeables.

La importancia faunística de las Marismas del Guadalquivir es sumamente grande, destacando especialmente las poblaciones orníticas que utilizan el Parque en las distintas épocas del año. Los contingentes de acuáticas invernantes poseen gran importancia, albergando habitualmente alrededor del 50% de las anátidas y fochas

invernantes en el conjunto del estado español. Diversas especies tienen en Doñana su cuartel de invernada más importante dentro de la Península Ibérica o, incluso, del territorio europeo, destacando las poblaciones de Ánsar Común, Ánade Silbón, Cerceta Común y Pato Cuchara (Monval y Pirot, 1989).

## **2.2. - ESTUDIO DE LOS SEDIMENTOS**

Para la obtención de datos sobre la densidad de perdigones de caza en los sedimentos de las localidades seleccionadas, se siguió la metodología que habitualmente se utiliza en este tipo de estudios (Pain, 1991a; Whitehead y Tschirner, 1991) . Este parámetro puede ser un indicador útil, aunque con algunas limitaciones, para conocer la presencia de plumbismo en una zona concreta (Friend, 1985).

Esta metodología consiste en la obtención de muestras, a distancias constantes, a lo largo de líneas de muestreo paralelas y equidistantes entre sí. Las zonas muestreadas, las distancias concretas entre muestras y entre transectos, el número de transectos realizados y la superficie cubierta en cada una de las localidades, se describen detalladamente en los apartados siguientes.

Las muestras se obtuvieron mediante el empleo de tubos de PVC rígido de diámetro interno de 8,4 ó 11, 9 cm, según las localidades. A los tubos, de 1,2 m de longitud, se les añadieron asas para su manipulación, tapones herméticos en su parte superior y se les cortaron las paredes de forma que ofrecieran superficies dentadas en su parte inferior, para su mejor introducción en el suelo. Para enterrarlos se les imprimía un movimiento rotatorio, presionándolos al mismo tiempo fuertemente hacia abajo. Una vez se habían conseguido enterrar 15-20 cm, según las localidades, se tapaban herméticamente por su extremo superior y se hacía girar este extremo hacia los lados, con movimientos de radio creciente, hasta permitir la extracción conjunta del tubo y la muestra de sedimento en su interior.

Posteriormente la parte interior del tubo se introducía dentro de bolsas de plástico cilíndricas de diámetro ligeramente superior al tubo. Una vez hecho esto, tras destapar el tubo y con la ayuda de un émbolo que se introducía por la parte superior del mismo, se extraía la muestra de su interior siendo, a continuación, introducida dentro de bolsas de plástico para su almacenamiento y transporte.

### **2.2.1. - ZONAS MUESTREADAS**

Los humedales en los que se realizó el estudio poseen una gran extensión lo que, a su vez, determina una gran diversidad de regímenes e intensidad de explotación cinegética y de usos del suelo. Estos dos parámetros condicionan la densidad de los perdigones en los sedimentos y su accesibilidad para las aves. Por un lado, las zonas en las que se efectúe un mayor número de disparos por unidad de superficie y año tendrán, a iguales usos y características del suelo, una mayor concentración de perdigones a profundidades accesibles para las aves. Por otro, zonas en las que exista una densidad de disparos similar tendrán, o no, en función del tipo de usos a los que se destinen los suelos y de sus propias características físicas, diferentes o similares concentraciones de perdigones accesibles. Cabe señalar que, por ejemplo, el cultivo de los suelos disminuye

la disponibilidad de los perdigones (Fredrikson *et al.* , 1971); también las características del suelo y la densidad de la vegetación inciden de forma clara en la tasa de sedimentación de los perdigones y, por tanto, en su accesibilidad para las aves (Pain, 1991a).

Debido a que nuestras posibilidades de esfuerzo de muestreo y, sobre todo, de análisis posterior de las muestras, no nos permitían realizar una investigación detallada de las concentraciones de perdigones en las distintas subzonas que, atendiendo al régimen de explotación cinegética, a los usos del suelo, al tipo de sedimento, etc., se podrían diferenciar dentro de cada localidad, se optó por obtener las muestras en aquellas áreas en las que, a *priori*, fuese probable obtener datos sobre las máximas concentraciones existentes en las mismas. Sin embargo, debido al gran número de muestras analizadas en cada localidad y a la gran superficie cubierta, el muestreo realizado impide la obtención de resultados muy sesgados, debidos a la proximidad o distancia entre los puestos de caza y zonas de muestreo. Por tanto, los resultados obtenidos con el muestreo realizado, pueden ser considerados como representativos de las superficies con intensidades de caza similares dentro de cada localidad. El total de muestras tomadas se refleja en la *Tabla 2.2*.

### **Parque Natural del Delta de l'Ebre (T)**

En el Delta de l'Ebre se estudiaron un total de cuatro áreas que fueron: el Calaix de Mar de la Illa de Buda, la laguna de la Encanyissada, los arrozales de la finca de la Llanada y las salinas de la Punta de la Banyà (*Figura 2.2*).

En el Calaix de Mar de la Illa de Buda ya se habían realizado anteriormente otros muestreos (Guitart *et al.* , 1992b; 1994), si bien éstos se habían efectuado en la zona periférico a la laguna o "calaix", por lo que se decidió en esta ocasión muestrear el interior de la laguna. En esta zona las tiradas de caza se realizan desde puntos fijos distribuidos regularmente y paralelos al mar, situados entre la laguna y la playa. La zona muestreada de la laguna presenta una profundidad aproximada de 40-60 cm y está prácticamente cubierta en su totalidad por vegetación subacuática; la periferia de la laguna está ocupada principalmente por salicornar. El muestreo se llevó a cabo mediante dos transectos perpendiculares a la orilla de 40 m de longitud, con puntos de muestreo a cada 10 m del transecto y tomando 5 muestras de sedimento de 11,9 cm de diámetro en cada punto. Esta pauta en la toma de muestras (cinco muestras por cada punto de muestreo) se repitió en todos los muestreos del Delta de l'Ebre. La distancia entre transectos era de 50 m. En total en el Calaix de Mar de la Illa de Buda se cogieron 50 muestras de sedimento (0,56 M2). La época de muestreo fue la primavera de 1993.

**Tabla 2.2.-**Resumen de las zonas y número de muestreos de sedimentos llevados a cabo en las marismas españolas

Zona	Nº transectos (longitud m)	Nº puntos (Nº réplicas)	Nº muestras
DELTA DE L'EBRE Illa de Buda			
	2 (40)	10 (5)	50
Encanyissada Iº " 20 (5 cms)	4 (40)	20 (5)	100
	4 (40)	20 (5)	100
Llanada	4 (80)	20 (5)	100
Punta de la Banya	4 (80)	20 (5)	100
ALBUFERA DE VALENCIA Sueca "Matoll" Sueca " nº 7 "			
	10 (200)	100 (1)	100
	4 (255)	51 (1)	51
EL HONDO Embalse de Levante Charca Reserva			
	10 (375)	150 (1)	150
	4 (250)	40 (1)	40
TABLAS DE DAIMIEL Puesto del Rey			
	10 (304)	152 (1)	152
DOÑANA L. Caraviruelas.			
	5 (300)	150 (1)	150
<b>TOTAL</b>	61	733	1093

En la laguna de la Encanyissada se tomaron las muestras de sedimento en cuatro transectos de 40 m de longitud y paralelos a la orilla de la laguna. Dos de estos transectos se realizaron justo en el borde de la formación de carrizo y enea que rodea la laguna. Los otros dos transectos, paralelos a los anteriores, se llevaron a cabo en el

interior de la laguna, con una profundidad de entre 4070 cm de agua. Los puntos de muestreo se realizaron cada 10 m y el total de muestras tomadas fue 100 (1,11 m<sup>2</sup>). De forma adicional se hizo un muestreo en una zona de la laguna que recientemente había sido desecada y roturada para favorecer la regeneración de la vegetación. En esta zona se tomaron 100 muestras (1,11 m<sup>2</sup>) de 5 cm de profundidad en cuatro transectos como los descritos anteriormente. Dos de ellos se realizaron en la zona del cinturón de vegetación que rodea la laguna (enea y carrizo), que fue desecada, pero no roturada. Los otros dos transectos se llevaron a cabo en el lecho de la laguna, que fue secada y posteriormente roturada. En el momento del muestreo la laguna volvía a tener su nivel de agua habitual para la época. La época de ambos muestreos fue el verano de 1993. En esta zona las tiradas de caza se hacen desde puestos fijos que rodean la laguna. En la zona muestreada además se realizaba anteriormente el "barreig" de la Focha Común, que consiste en rodear a las aves con barcas hasta que quedan concentradas en muy poco espacio, es entonces cuando las aves al intentar escapar volando son abatidas por los cazadores que van en las barcas o por los que rodean la laguna. La zona estudiada corresponde al lugar en que quedaban acorraladas las fochas. Actualmente esta práctica no se realiza en esta laguna debido a la escasez de fochas, pero sí que se sigue llevando a cabo en otras lagunas del Delta.

En los arrozales de la finca de la Llanada se hicieron cuatro transectos de 80 m de longitud con 100 m de separación entre sí, con puntos de muestreo cada 20 m y tomándose un total de 100 muestras de sedimento (1,11 m<sup>2</sup>). El muestreo se realizó justo después de la temporada de caza, en la primavera de 1993, cuando los campos aún se encontraban inundados con unos 20-40 cm de agua, y antes de la roturación de los campos para prepararlos para la siembra. En estos arrozales, debido a la profundidad que presentan, se dan altas concentraciones de anátidas durante el invierno siendo por lo tanto uno de los mejores cotos de caza. Las tiradas se realizan desde puestos fijos situados entre los arrozales.

La última zona muestreada en el Delta de l'Ebre fue la Punta de la Banya. Esta es una zona importante para el refugio de miles de anátidas durante el invierno; principalmente permanecen en las salinas de esta zona durante el día para desplazarse por la noche a comer a los arrozales o las lagunas de agua dulce. Es por ello que era interesante ver las concentraciones de perdigones en la zona del Delta que acoge el mayor número de anátidas en reposo. Esta zona es por otra parte Reserva Integral, por lo que la caza al igual que el acceso están actualmente prohibidos. La zona de la Punta de la Banya es también donde se sitúan las principales colonias nidificantes de aves marinas del Delta por lo que la toma de muestras se realizó al finalizar la época de cría, durante el verano de 1993. El área muestreada corresponde a unos calentadores de las Salinas de La Trinitat que se encuentran en el interior de la Reserva Integral. En esta zona no existe vegetación sumergida. Se efectuaron cuatro transectos paralelos de 80 m de longitud con puntos de muestreo cada 20 m; la distancia entre transectos era de 35 m, y el número de muestras recogidas fue de 100 (1,11 m<sup>2</sup>).

Se debe destacar que en las zonas estudiadas en el Delta de l'Ebre se ha tendido a muestrear en aquellos puntos donde se está dando una mayor concentración de aves acuáticas durante el invierno, y por lo tanto las áreas muestreadas han sido algo menores que en las otras zonas. Sin embargo han sido tomadas cinco réplicas de cada punto de muestreo, por lo que el número total de muestras en cada zona ha sido similar.



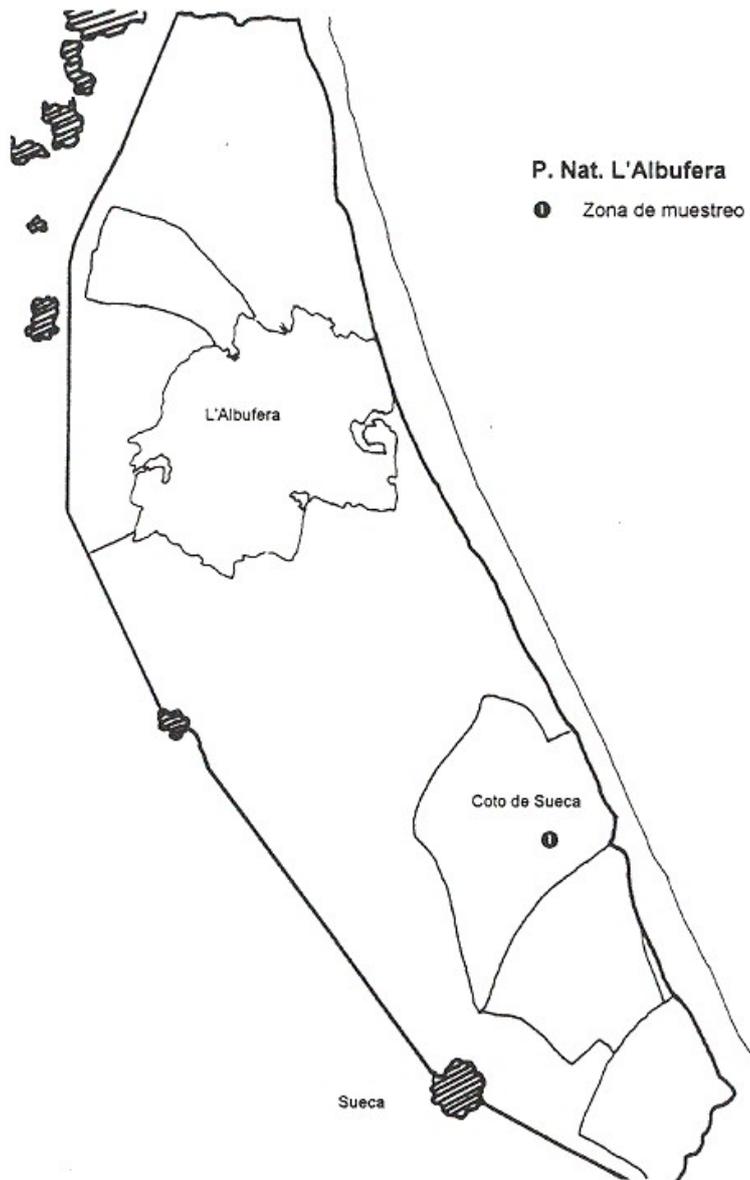
**Figura 2.2.** - Áreas del Delta de l'Ebre muestreadas para la determinación de la concentración de perdigones.

### **Parque Natural de l'Albufera de València (V)**

El muestreo de sedimentos se realizó en los arrozales comprendidos dentro de la Partida Nova del Vedado de Sueca (Figura 2.3). Este vedado es la zona más importante para anátidas invernantes dentro del Parque siendo, por tanto, una de las áreas cuya explotación cinegética es más intensa. En ella la caza se practica desde puestos fijos, subastados todos los años, durante ocho tiradas, entre finales de noviembre y finales de enero. Posteriormente, una vez finalizadas las tiradas, se realizan las Cábilas: período en el que durante 8-10 días consecutivos se deja cazar permanentemente en el vedado a todos los miembros de la sociedad de cazadores.

El muestreo se realizó a finales de enero de 1993, época en la que los arrozales muestreados presentaban abundante vegetación acuática, crecida a lo largo del invierno, y estaban cubiertos por una lámina de agua de 10-40 cm de profundidad.

Las muestras se obtuvieron por medio del tubo de 11,9 cm de diámetro interno. Concretamente, se extrajeron 151 muestras en dos zonas cercanas, situadas entre los puestos denominados "Matoll" y "nº 7". En ellas se tomaron 100 (1,11 m<sup>2</sup>) y 51 (0,56 m<sup>2</sup>) muestras, distribuidas a lo largo de 10 y 4 transectos, respectivamente. La distancias de separación entre muestra y líneas de muestreo fueron, en ambas zonas, unos 20 y 30 m. De este modo, la malla de muestreo cubrió unas 5,5 ha, en la primera zona, y 2,7 ha en la segunda.

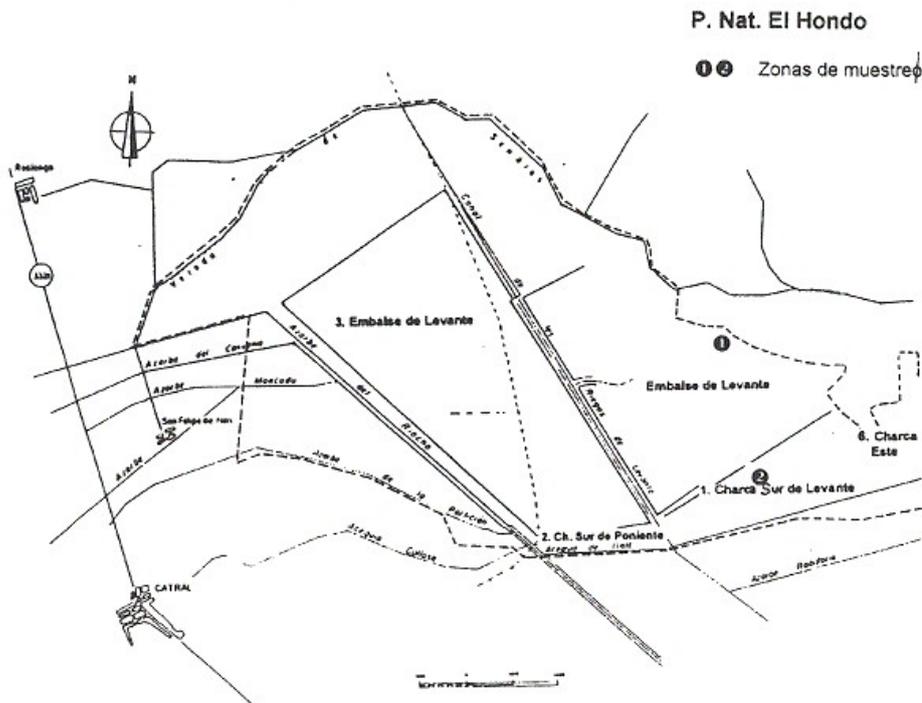


**Figura 2.3.** - Zona muestreada para análisis de sedimentos en el Parque Natural de l'Albufera de *València*.

## Paraje Natural de El Fondo (A)

En esta localidad se muestrearon dos zonas distintas: el Embalse de Levante y la Charca Sur de Levante (Charca de Reserva) a finales de junio del presente año (Figura 2.4).

El Embalse de Levante es la primera zona del Paraje en la que se inició la explotación cinegética. La caza en este embalse durante la temporada 92-93 se cerró, debido a la sequía, antes de la fecha habitual. El embalse, desprovisto de cualquier tipo de vegetación subacuática, presentaba, durante el muestreo, una profundidad de unos 30-50 cm. La zona muestreada fue la lámina de agua existente entre los puestos 25 y 26. Se extrajeron 150 muestras mediante el empleo de un tubo de 11,9 cm de diámetro ( $1,66 \text{ m}^2$ )<sup>o</sup>. La malla de muestreo, que cubrió 13, 125 ha, constó de 10 transectos, iniciados en la orilla este y perpendiculares a la misma, separados unos 35 m entre sí. La distancia de separación entre muestras dentro de los transectos fue de 25 m.



**Figura 2.4.** - Zonas muestreadas para análisis de sedimentos en el Parque Natural de El Fondo.



El muestreo se realizó a mediados de abril del presente año, en la zona libre de vegetación helofítica y que, en situaciones normales, correspondería a la lámina de agua. En esta zona, en las fechas del muestreo, sólo existían charcos, de 5-10 cm de profundidad y desprovistos de vegetación sumergida, en las áreas más deprimidas, siendo el resto terrenos con suelos secos superficialmente. Se extrajeron un total de 152 muestras con el tubo de 11,9 cm de diámetro (1,69 m<sup>2</sup>). Cabe resaltar la poca compactación y gran porosidad que presentaba el sustrato. La malla de muestreo incluyó 10 transectos, cubriéndose un total de 8,1 ha. La distancia entre muestras y transectos fue de 20 y 30 m, respectivamente.

### **Parque Nacional de Doñana (H/SE)**

El muestreo de los sedimentos se realizó en terrenos propiedad del IARA, situados dentro del Término Municipal de Hinojos y englobados dentro del Preparque Norte del Parque Natural del Entorno de Doñana (*Figura 2.6*).

La zona muestreada es conocida con el nombre del Lucio de las Caraviruelas Altas. Puede definirse como marisma de almajos (*Salicornia spp.*, *Suaeda spp.*), con régimen de inundación estacional y sometida a una baja presión de ganadería extensiva. El área es utilizada como cazadero de ánsares, principalmente, por los cazadores locales. Debido a la sequía, la actividad cinegética estuvo prohibida en esta zona durante la temporada 92-93.

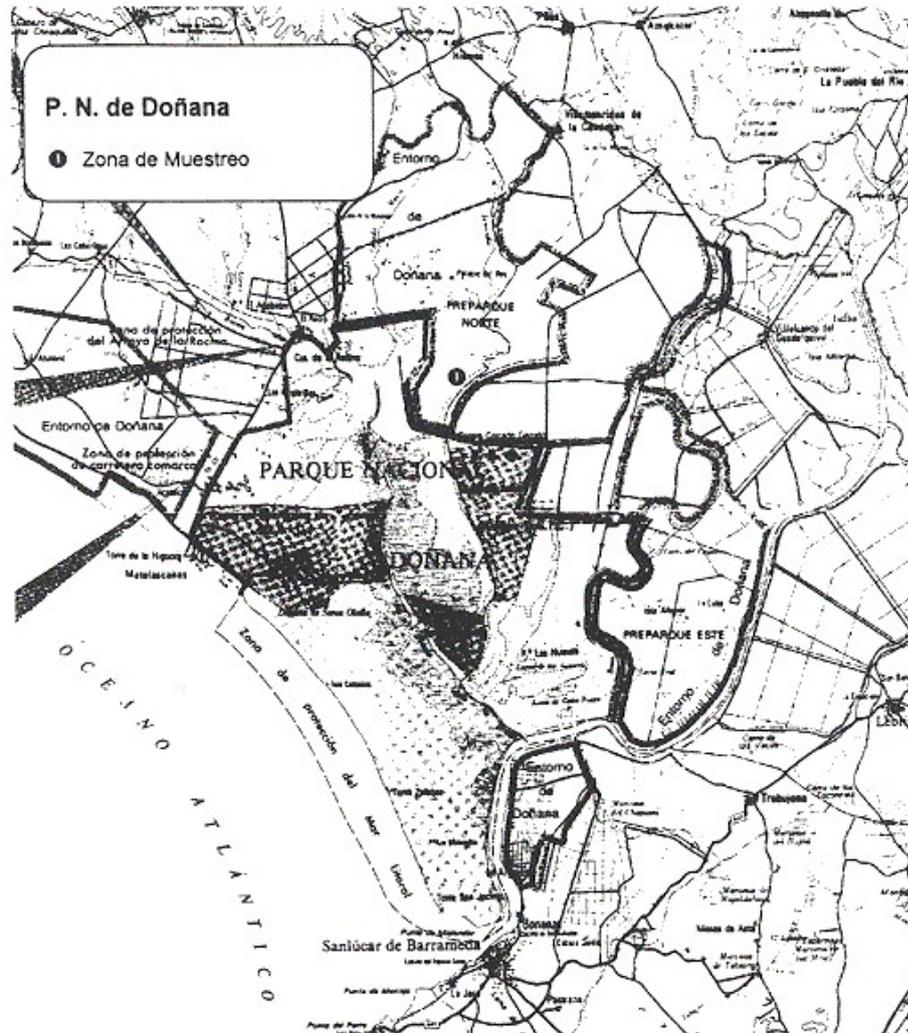
El muestreo se realizó dentro de la superficie que, en los períodos de inundación, ocupa la lámina de aguas libres del Lucio. Esta superficie presentaba abundantes rizomas de paja (*Scirpus spp.*) que dificultaron la extracción de las 150 muestras obtenidas (0,83 m<sup>2</sup>). El muestreo se inició con el tubo de 11,9 cm de diámetro, extrayéndose con el mismo las primeras 25 muestras. A causa de la extremada dureza del suelo, consecuencia del prolongado período de sequía, se optó por reducir el tamaño de las muestras. Para ello, se utilizó un tubo de PVC de 8,4 cm de diámetro interior, obteniéndose las restantes muestras de sedimento de sólo 15 cm de longitud, a diferencia de las extraídas en las otras localidades que poseían 20 cm de longitud. La separación entre transectos fue de 30 m, sin embargo la distancia entre muestras dentro de las líneas de muestreo se redujo a 10 m. Como consecuencia, la malla de muestreo, formada por 5 líneas, cubrió 7 ha.

### **2.2.2. - DETERMINACIÓN DE PERDIGONES EN LAS MUESTRAS**

Como se ha descrito en el apartado anterior, las muestras de sedimento quedaban almacenadas en bolsas de plástico de dimensiones muy parecidas a las del tubo, de forma que mantenían la ordenación vertical de los materiales. De este modo, las muestras recogidas en L'Albufera de València, El Fondo, las Tablas de Daimiel y Doñana fueron trasladadas a las instalaciones del Centro de Protección y Estudio del Medio Natural de la Conselleria de Medi Ambient de la Generalitat Valenciana, donde se procedió a realizar su análisis, mientras que las obtenidas en el Delta de l'Ebre fueron analizadas en la Estación Biológica del Parque Natural.

Antes de iniciar la búsqueda de perdigones, se escogieron al azar 5 muestras de cada localidad estudiada. A dichas muestras se les extrajo un fragmento longitudinal

que sería utilizado para la realización de los análisis granulométricos. Los datos de los perdigones presentes en estos fragmentos y la profundidad a que se encontraron, se añadieron posteriormente a los resultados obtenidos en el análisis total.



**Figura 2.6.-** Zona de muestreo de sedimentos en Doñana.

Con el fin de poder observar la existencia de diferentes concentraciones de perdigones a diferentes profundidades, se dividió cada muestra en cuatro capas de 5 cm de grosor que se analizaron por separado. En el caso del P. N. de Doñana, debido a sus menores dimensiones, las muestras se dividieron en sólo 3 capas de 5 cm.

La búsqueda de perdigones se realizó por filtrado a través de una columna de dos tamices. El tamiz superior, dado que el diámetro de perdigón utilizado para la caza de acuáticas es ligeramente superior, poseía una luz de 2 mm. El tamiz inferior era de 1 mm, permitiendo retener aquellos perdigones que, debido a su desgaste o ser

para caza de agachadizas, poseyeran un diámetro menor. En las zonas con abundante presencia de restos vegetales macroscópicos, la Albufera de Valencia y Doñana, se añadió un primer tamiz de 4 mm de calibre para facilitar su separación. En la Albufera de Valencia se cuantificó además, mediante la asignación de un código, la cantidad de vegetación superficial existente en cada una de las muestras.

Previo al filtrado, con objeto de facilitar su desagregación, se sumergían por separado las distintas capas en agua durante unas horas. Posteriormente, se vertían sobre la torre de tamices. Entonces, gracias a la agitación manual y al continuo aporte de agua, los materiales iban quedando retenidos en los distintos niveles de la torre.

Terminado el proceso, se examinaba visualmente el material vegetal, así como los materiales retenidos en los tamices. Una vez identificados, se anotaba el número de perdigones. Posteriormente, una vez filtradas todas las capas que componían cada muestra, se anotaba el número de perdigones encontrado a distintas profundidades.

### **2.2.3. - ANÁLISIS GRANULOMÉTRICOS**

Diversos autores han señalado la incidencia que la granulometría de los suelos de una zona determinada (presencia o no de gravas de cierto tamaño) , puede tener sobre la tasa de ingestión de perdigones por parte de las aves que habitan en la misma (Amiard-Triquet *et al.*, 1992; Pain, 1992).

Con objeto de obtener información sobre dichas características de los suelos, y su posible relación con los resultados obtenidos en los análisis de contenidos estomacales, así como de concentraciones de plomo en hígado, se procedió a la descripción granulométrica de los sedimentos de las zonas estudiadas.

Para ello (ver apartado anterior), se analizaron de cada zona 5 muestras escogidas al azar. Este número de muestras, dada la gran uniformidad espacial de los procesos sedimentológicos que tienen lugar en las áreas de estudio, se considera suficiente para caracterizar una gran parte de las zonas de querencia para las aves acuáticas existentes en las mismas.

Los análisis se realizaron a partir de porciones longitudinales de material procedente de las muestras. Considerando las muestras como unidades homogéneas de material sedimentario, la elección de los fragmentos fue también al azar.

El análisis se realizó tamizando el material a través de una columna de filtrado compuesta por 4 tamices de calibre decreciente: 4 mm, 2 mm, 1 mm y 0,5 mm.

Para ello, en primer lugar se secaron las muestras (ahora porciones) en un horno a 105°C. Una vez secas se pesaron, considerando ese dato como el peso total de las mismas. Para su desagregación y homogeneización, las muestras se sumergieron en una disolución al 5% de pirofosfato sódico, agitándose durante unos minutos.

Al igual que en el apartado anterior, la mezcla se vertió sobre los tamices al tiempo que se hacía circular agua a su través, quedando las partículas retenidas en los distintos niveles, dependiendo de su grosor.

Terminado el filtrado, se determinó el peso seco de cada fracción de material. Para ello, se separaban los tamices junto con el material que había quedado retenido en ellos y se ponían a secar en el horno. Una vez secos, se pesaban con el material en su interior. Seguidamente se lavaban bien, hasta que no quedasen restos de material, se secaban y pesaban de nuevo el tamiz. La diferencia entre ambos pesos nos daba el peso seco correspondiente a las distintas fracciones obtenidas.

En caso de que la muestra contuviera una fracción vegetal notable, ésta debía separarse para obtener su peso seco correspondiente. En el filtrado, este material quedaba apelmazado en el tamiz superior. Se recuperaba y se sumergía de nuevo en la solución de homogeneización a la que se añade hasta un 30% de agua oxigenada. De este modo, los fragmentos de tejido vegetal reaccionan con el agua oxigenada y quedan en la parte superior de la solución, siendo eliminados mediante una bomba de vacío. A continuación, se agitaba la disolución durante unos minutos y, si aparecía nuevamente material flotante, se eliminaba de igual forma. El proceso se repitió tantas veces como fue necesario hasta observar que no quedaban partículas en flotación. El peso seco de los fragmentos vegetales se calculaba como la diferencia entre el peso seco total de la muestra (obtenido al principio) y la suma de los pesos secos de cada fracción resultante de material.

### 2.3. - ESTUDIO DE LAS AVES

La intoxicación por plomo puede afectar a las especies de aves acuáticas de diversa forma en función de las características intrínsecas de la especie. A esto se suman las diferencias que pueden darse entre las diversas marismas españolas. En este estudio, para poder conocer el alcance del plumbismo en las aves acuáticas, se ha determinado la prevalencia de la intoxicación, es decir, número de ejemplares que sufren la intoxicación en un período de tiempo determinado. Debe recalarse la diferencia entre prevalencia e incidencia, otro concepto epidemiológico que hace alusión al número de animales que enferman en un período determinado de tiempo. La diferencia radica en que para conocer la incidencia deberíamos tener controlados a todos los animales para saber en qué momento empiezan a estar intoxicados. Sin embargo, es la prevalencia el valor utilizado en los estudios de plumbismo en aves de todo el mundo, por lo que su utilización permitirá contrastar los datos obtenidos con los de otros estudios. No obstante, se ha realizado una estimación de la incidencia mensual ( $n^0$  de aves que enferman cada mes) a partir de los datos de Bellrose (1959), para corregir la prevalencia en función del sesgo que se comete por el método de captura y considerando la duración de los perdigones en la molleja de 20 días. Esto permite estimar la incidencia mediante la ecuación:

$$\text{Incidencia mensual} = (\text{prevalencia corregida}/20) \times 30$$

La corrección de la prevalencia según el método de Bellrose (1959) consiste en considerar que las aves con 1 perdigón son 1,5 veces más fáciles de cazar, con 2

perdigones son 1,9 veces, con 3 son 2 veces, con 4 son 2,1 veces, con 5 son 2,2 veces, con 6 son 2,3 veces y con más de 6 son 2,4 veces más fáciles de cazar:

$$\text{Prevalencia corregida} = \% \text{ con 1 perdigón}/1,5 + \dots + \% \text{ con } >6 \text{ perdigones}/2,4$$

A partir del mismo trabajo de Bellrose (1959) se puede dar una estimación de la mortalidad al considerar que las aves con 1 perdigón mueren en el 9% de los casos, con 2 muere el 23%, con 3 muere el 30%, con 4 muere el 36%, con 5 muere el 43%, con 6 muere el 50% y con más de 6 muere el 75% de las aves.

$$\text{Mortalidad} \text{ con 1 perdigón} \times 0,09/1,5 + \dots + \% \text{ con } >6 \text{ perdigones} \times 0,75/2,4$$

### 2.3.1. - MUESTREO DE LOS ANIMALES

Se han utilizado aves capturadas por los cazadores y aves encontradas muertas en las zonas húmedas, pero con diferentes objetivos en cada caso.

#### 2.3.1.1. - Estudio de la prevalencia del plumbismo aviar

Las aves utilizadas para estudiar la prevalencia de la intoxicación fueron cazadas en las tiradas habituales de cada zona de las temporadas de caza 1991/92, 1992/93 y 1993/94 excepto para el caso ya comentado de Daimiel. Todos estos ejemplares eran comprados a los cazadores. Han sido estudiados 363 ejemplares de un total de 13 especies. El número mínimo de ejemplares capturados para cada especie estaba fijado en 20 para cada zona. En algunas especies poco frecuentes, como el Porrón Moñudo (*Aythya fuligula*) o la Cerceta Carretona (*Anas querquedula*), no se ha podido alcanzar la cifra deseada, si bien estas especies no se incluían en los planteamientos iniciales de trabajo como las más importantes. No obstante, se consideró interesante hacer un pequeño muestreo en este tipo de especies, ya que está descrito, especialmente en el caso del Porrón Moñudo, que podría ser una de las especies más afectadas por plumbismo. En la *Tabla 2.3* pueden verse los ejemplares muestreados en cada una de las zonas estudiadas. En cada zona ha sido calculada la prevalencia del plumbismo para una especie si se ha alcanzado una muestra de 6 ejemplares como mínimo.

**Tabla 2.3.** - Especies y número de ejemplares muestreados entre 1991 y 1994 para el estudio de la prevalencia del plumbismo.

Especie	Zona				
	D.Ebre	A.Valencia	Fondo	T.Daimiel	Doñana
<i>A. anser</i>	--	--	--	--	6
<i>A. platyrhynchos</i>	4	26	--	30	6
<i>A. acuta</i>	24	--	--	--	--
<i>A. clypeata</i>	32	21	3	--	--
<i>A. strepera</i>	23	--	--	--	--
<i>A. crecca</i>	28	--	--	--	--
<i>A. penelope</i>	19	--	--	--	--
<i>A. querquedula</i>	2	--	--	--	--
<i>N. rufina</i>	20	16	6	--	--
<i>A. ferina</i>	26	--	6	--	--
<i>A. fuligula</i>	5	--	--	--	--
<i>F. atra</i>	28	--	--	--	--
<i>G. gallinago</i>	2	30	--	--	--
TOTAL	213	93	15	30	12

En las zonas húmedas de la Comunidad Valenciana debemos sumar 52 aves, que habiendo sido cazadas en años anteriores al del estudio (temporada 1986-87), se realizó el examen de la molleja (*Tabla 2.4*). De estos animales no existe la analítica de plomo en vísceras por lo que sólo los podremos tener en cuenta de cara a mejorar el cálculo de la prevalencia a partir de la presencia de perdigones en molleja. De esta forma el total de animales analizados es de 415.

**Tabla 2.4.-** Aves cazadas con anterioridad al presente estudio y de las que se ha estudiado la molleja

Especie	Zona		
	A.Valencia	Fondo	M.Almenara <sup>1</sup>
platyrhynchos	--	1	--
<i>A. acuta</i>	--	2	1
<i>A. clypeata</i>	5	14	2
<i>A. strepera</i>	2	--	--
<i>A. crecca</i>	3	--	--
<i>A. penelope</i>	2	1	1
<i>N. rufina</i>	1	1	--
<i>A. ferina</i>	4	6	--
<i>F. atra</i>	3	3	--
TOTAL	20	28	4

En el Delta de l'Ebre, debido al elevado número de capturas de la temporada de caza 1992/93, se pudo aumentar el número de especies a 8, cuando en principio se

iba a centrar sólo en 4. El Anade Real ya había sido estudiado anteriormente en la zona (Guitart *et al.*, 1994), por lo que en estos años apenas se adquirieron ejemplares de esta especie, a diferencia de las otras zonas de muestreo.

En L'Albufera de València se ha alcanzado un número significativo de ejemplares para 4 especies, mientras que de otras 5 se obtuvieron unos pocos individuos.

En El Fondo, una zona incluida a última hora a causa de la mortalidad de Flamencos que se viene dando por plumbismo desde 1992, se recogieron más de 6 ejemplares de 3 especies, que permitieron dar una aproximación de la prevalencia en la zona. De otras cuatro especies se estudió algún individuo, sin ser utilizados para cálculos de prevalencia.

Las Tablas de Daimiel se consideraron como referencia por ser una zona donde no se caza desde hace años, y para ello únicamente se estudió el Ánade Real. Aunque ésta no es en principio la especie más afectada, sí que es la más común, con una población básicamente sedentaria, y que ha sido objeto de estudio en las otras zonas del presente trabajo, al igual que en otros muchos trabajos del resto del mundo.

Por último en Doñana tan sólo se ha conseguido estudiar 6 Ánades Reales y otros 6 Ánsares Comunes *Anser anser* en la temporada 1993/94, ya que la sequía que afecta a las Marismas del Guadalquivir ha hecho que el número de capturas por parte de los cazadores fuese bastante bajo.

### **2.3.1.2. - Control de mortalidad por plumbismo en las zonas húmedas**

Paralelamente a estos muestreos al azar que se basan en la captura de animales por los cazadores, se ha llevado a cabo un seguimiento en los animales que se encontraban muertos en las marismas estudiadas y que podían haber fallecido por plumbismo. Se trata de animales encontrados por la guardería de los Parques durante su vigilancia o de animales que han ingresado en los Centros de Recuperación. Esto tiene como objeto confirmar el diagnóstico de una patología común en las zonas húmedas a la vez que sirve de tanteo para ver las especies que mayor mortalidad presentan por esta causa, algunas de las cuales, al ser especies protegidas, no han entrado en el estudio de la prevalencia (Tabla 2.5). Este es el caso del Flamenco *Phoenicopterus ruber*, la Cerceta Pardilla *Marmaronetta angustirostris*, la Malvasía Común *Oxyura leucocephala* y la Aguja Colinegra *Limosa limosa*, aves que parecen estar afectadas pero que no pueden ser muestreadas por medio de la caza. De estos ejemplares se ha podido examinar la molleja y en algunos casos hacer analíticas de plomo en vísceras. En esta parte del estudio se han incluido animales encontrados muertos en el Paraje Natural de las Salinas de Santa Pola, localizado cerca de El Fondo, y siendo por tanto dos zonas estrechamente relacionadas.

**Tabla 2.5.-** Animales encontrados muertos en las zonas húmedas y examinados por plumbismo como posible causa de muerte.

Especie	Zona				
	D.Ebre	A.Valencia	Fondo	Sta.Pola	Doñana
Ph. Ruber	17	--	35	33	--
A. anser	--	--	--	--	1
<i>A. penelope</i>	--	--	--	1	--
<i>A. crecca</i>	1	4	--	--	--
<i>A. Platyrhynchos</i>	8	2	1	--	2
<i>A. acuta</i>	16	--	--	--	--
<i>A. clypeata</i>	1	1	1	2	1
<i>M. angustirostris</i>	--	--	--	1	--
<i>N. rufina</i>	--	1	1	--	--
<i>A. ferina</i>	1	1	1	1	--
<i>O.leucocephala</i>	--	--	1	--	--
<i>F. atra</i>	--	--	--	2	--
<i>L. limosa</i>	1	--	--	--	--
<i>V. vanellus</i>	--	--	1	--	--
<i>L. ridibundus</i>	--	1	--	--	--
L. cachinnans	--	--	--	1	--
TOTAL	45	10	41	41	4

### 2.3.2. - EXAMEN DE LOS ANIMALES Y TOMA DE MUESTRAS

Tras ser adquiridas a los cazadores, cada ave fue identificada individualmente, colocada en bolsas de plástico y congelada rápidamente a -20°C, en el caso de que no se pudiese llevar a cabo la toma de muestras en el mismo momento. De cada animal se tomó el peso, la longitud del ala y alguna observación del examen externo. En el Delta del Ebro se tomó como longitud del ala la longitud de la primera primaria mientras que en el resto de zonas se tomó la distancia de la articulación carpal a la punta de la última primaria. Esta medida del ala se utilizó junto al peso del ave para estandarizar un índice de condición corporal (peso/ala) para poder relacionarlo con los niveles de plomo. La extracción de las muestras se llevó a cabo al realizar la necropsia convencional de un ave. El hígado y la molleja junto al proventrículo fueron separados y conservados congelados hasta su análisis.

En las aves del Delta de 1,Ebre se cuantificó el depósito de grasa subcutánea y perivisceral mediante una escala de 0 a 5. El sexado de las aves se llevó a cabo por el reconocimiento de las gónadas, aunque en algunos casos se pudo determinar por el plumaje. La edad del ave se determinó según el plumaje y la presencia de Bolsa de Fabricio en el caso de los animales de menos de un año, por lo que se establecieron dos grupos, los animales nacidos la primavera anterior y los adultos de más de un año.

En el momento de hacer la necropsia también se hizo una inspección de toda la canal para el diagnóstico de traumatismos antiguos y patologías de curso crónico como la aspergilosis y la tuberculosis aviar.

### 2.3.3. - EXAMEN DE LA MOLLEJA

Las mollejas se examinaron exteriormente para encontrar orificios del disparo y descartar aquellos perdigones que pudieran haber entrado de esta forma. A continuación fueron abiertas mediante un corte longitudinal y su contenido depositado en un recipiente con agua. La molleja entera fue lavada en este recipiente para retirar todo su contenido. El agua fue desechada por decantación y el contenido puesto a secar a temperatura ambiente sobre papel secante. A continuación se preparó este contenido para medir el tamaño del grit y determinar la presencia de perdigones.

Para esto se tuvo que eliminar la materia vegetal haciéndola flotar en cloroformo, disolvente que presenta una densidad superior a la del agua. El cloroformo presenta el inconveniente de tener que ser manipulado en una campana de extracción de gases, pero la ventaja es que se evapora rápidamente y no deja residuos que pudieran alterar el peso de las fracciones de grit o de los perdigones.

Después de separar la materia vegetal, el grit con los perdigones (si los había) era depositado en una placa de Petri para su examen con una lupa binocular a 10 aumentos. Los perdigones encontrados en cada animal fueron pesados en conjunto para conocer la cantidad de plomo que había podido ser ya absorbida. Para esto, sabiendo que un perdigón del n°6 (el más utilizado en las zonas húmedas) pesa 0,128 g, multiplicado por el número de perdigones presentes en la molleja y restado por el peso de los perdigones que aún se encuentran en la molleja, obtenemos un valor aproximado del plomo que ha sido erosionado:

$$\text{Peso erosionado} = (\text{N}^\circ \text{ perdigones} \times 0,128) - \text{Peso de perdigones}$$

#### **2.3.4. - DETERMINACIÓN DE PLOMO EN HÍGADO Y SANGRE**

El hígado entero era homogeneizado y una parte de éste se ponía a secar a 60°C durante 72 horas. Entre 0, 5 y 1 g de hígado seco (pesados con exactitud) eran digeridos mediante una ataque con ácidos de la siguiente forma. Se colocaba el hígado seco en un tubo de digestor con 25 ml de ácido nítrico y se mantenía a temperatura constante a 60°C durante 12 h con condensadores para evitar la pérdida de ácido por evaporación. Después se aumentaba la temperatura durante 1 h a 120°C, y más adelante se retiraban los condensadores y se subía la temperatura hasta 150°C. Cuando el volumen de ácido nítrico se había concentrado a 5 ml, se añadían 10 ml de ácido perclórico, se subía la temperatura a 220°C y se mantenía así durante 30 minutos. Después se retiraban los condensadores y se evaporaba el ácido hasta 2 ml con una temperatura de 240°C. Todo esto se realizaba bajo campana de extracción de gases. Los 2 ml restantes se resuspendían en 25 ml de agua desionizada y se procedía a su análisis por espectrometría de plasma de emisión (I.C.P., Inductively Coupled Plasma) mediante un Thermo Jarrell Ash modelo Polyscan 61E. El límite de cuantificación de la técnica era de 0,05 ppm sobre la solución de muestra digerida, que equivale a 1,25-2,5 ppm en peso seco de hígado, cifra inferior al nivel o umbral de intoxicación, que es de 5 ppm, y por tanto con una sensibilidad más que suficiente.

Complementariamente al análisis de vísceras, en unas cuantas aves que habían sido ingresadas con síntomas de plumbismo en el Centro de Recuperación del Delta de 1,Ebre, se les tomó una muestra de sangre de 0,5 ml por punción en la vena braquial,

con una aguja de 0,5 mm de diámetro. La muestra se conservó en un tubo Microtainer, Becton Dickinson, con EDTA y posteriormente se congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis. La determinación de los niveles de plomo se llevó a cabo por espectrometría de absorción atómica (AAS) en horno de grafito con un espectrómetro Varian modelo SpectrAA-30 Zeeman. La preparación de la muestra consistió en una dilución 1:10 con Tritón-X al 0,1%.

## **2.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

Los datos han sido analizados con el programa de análisis epidemiológico EPIINFO y el paquete estadístico SPSS/PC+.

### **2.4.1.- SEDIMENTOS**

Del análisis de las muestras de sedimentos se ha obtenido la concentración de perdigones por unidad de superficie. Esto se ha calculado de la siguiente forma:

$$\text{Concentración (perdigones/ha)} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ perdigones}}{\text{superficie muestreada}}$$

Se ha estudiado el efecto de la vegetación en la cantidad de perdigones encontrados, en el caso de los arrozales de Sueca de la Albufera de València, y de la proximidad de los puestos de caza, en el caso de la Illa de Buda del Delta de l'Ebre, mediante el test de Kruskal-Wallis.

### **2.4.2.- AVES**

En conjunto, se ha llevado a cabo un análisis intraespecífico de los datos para cada una de las especies de cada zona, y a su vez se han analizado los datos agrupados de varias zonas, en el caso de que la especie estuviese presente en más de una. También se han comparado los datos entre las diferentes especies, con el fin de determinar los factores que las hacen más susceptibles a la intoxicación.

#### **2.4.2.1.- Análisis intraespecífico**

##### **Factores predisponentes**

Se ha estudiado la predisposición a la intoxicación, o dicho de otra forma, a presentar perdigones en molleja o niveles de plomo en hígado por encima de 5 ppm, en función del sexo, la edad o las localidades de captura, todo mediante pruebas de  $X^2$

## Relación entre la ingestión de perdigones y niveles hepáticos de plomo.

La relación entre los dos métodos de diagnóstico utilizados ha sido ensayada de dos formas diferentes. Por una parte se ha considerado que ni la presencia de perdigones en la molleja ni los niveles de plomo en hígado eran en exclusiva la confirmación del diagnóstico de plumbismo. Por lo tanto se han tomado como dos enfoques diferentes de la intoxicación y con el mismo valor diagnóstico. En este caso se ha estudiado la concordancia de los dos métodos de diagnóstico empleados mediante el coeficiente Kappa de concordancia de dos pruebas (Martin *et al.*, 1987). Se obtiene Kappa de la siguiente forma:

Perdigones		[Pb]_en hígado	
		+	-
en molleja	+	a	b
	-	c	d

$$n = a+b+c+d$$

$$A = \% \text{ Concordancia aparente} = (a+d)/n$$

$$B = \% \text{ Concordancia debida al azar en los "++"} = (a+b)/n \times (a+c)/n$$

$$C = \% \text{ Concordancia debida al azar en los "--"} = (b+d)/n \times (c+d)/n$$

$$D = \% \text{ Concordancia total debida al azar} = B+C$$

$$E = \% \text{ Concordancia no debida al azar} = A-D$$

$$F = \% \text{ Máxima concordancia posible debido al azar} = 1-D$$

$$\text{Kappa} = E/F$$

La otra forma de ensayar la relación entre las dos pruebas ha sido considerar que la existencia de niveles por encima de 5 ppm sobre peso seco de hígado era la confirmación de la existencia de plumbismo, y la presencia de perdigones en molleja, una prueba diagnóstica de la cual queremos valorar su utilidad. Para esto utilizamos los parámetros de sensibilidad y especificidad. La sensibilidad de un método se define como la proporción de verdaderos positivos detectados con dicho método, es decir la capacidad de no dar falsos negativos. En cambio, la especificidad es la proporción de verdaderos negativos que se detectan, o dicho de otra forma, la capacidad de no dar falsos positivos. Esto va a permitir conocer el valor predictivo de un método diagnóstico, el examen de la molleja (Thrusfield, 1984), en este caso:

$$\text{Sensibilidad} = a/(a+c)$$

$$\text{Especificidad} = d/(b+d)$$

Para comprobar la implicación de los perdigones en la elevación de los niveles de plomo en vísceras se han comparado los niveles de los animales con perdigones en molleja con los que no presentan perdigones, mediante el test de la U de Mann-Whitney.

Los animales con niveles de plomo en hígado inferiores a 5 ppm se ha considerado que presentan un nivel de contaminación que correspondería a la exposición basal al medio. En esta exposición basal pueden estar incidiendo factores como el sexo, la edad de los animales, o simplemente estar determinado por la ingestión de perdigones, que por diversas razones no hubiesen producido una mayor elevación de

los niveles de plomo en hígado. Esto ha sido evaluado mediante el test de la U de Mann-Whitney.

Por otra parte se estudió en las especies con mayor prevalencia, la correlación lineal entre el número de perdigones que presentan en la molleja, el peso de estos y el peso de plomo absorbido estimado (plomo erosionado) con los niveles de plomo en hígado, o con los valores transformados logarítmicamente ( $\ln [Pb+1]$ ).

Con el grupo de aves muertas con síntomas de plumbismo, se ha comparado su nivel de plomo en hígado con el de las aves cazadas que también presentaron perdigones en la molleja mediante el test de la U de Mann-Whitney. También se ha estudiado la correlación lineal del nivel de plomo en sangre con el nivel en hígado y la ingestión de perdigones. Esto se ha llevado a cabo en el total de las aves mencionadas y por especies en el Flamenco Común, el Ánade Rabudo y el Ánade Real.

### **Efectos del plomo sobre la condición física**

El efecto que el plumbismo pudiera tener sobre la condición física de las aves ha sido evaluado sobre el peso, mediante un análisis de la varianza, considerando otros factores como el sexo y la edad, y con el valor del ala como covariante. El índice de condición corporal y la grasa, han sido evaluados de la misma forma sin considerar el ala como covariante. En algunos casos, en que la información de algunas de las variables era escasa, este factor se excluyó, del análisis.

En las especies con alta prevalencia se estudió la correlación lineal existente entre variables como el peso del ave, la condición corporal y la grasa con los niveles de plomo en hígado, el número de perdigones de la molleja, el peso de éstos y la cantidad de plomo erosionado en la molleja.

### **Estudio del grit**

Para cada especie se ha estudiado la composición de las diferentes fracciones de grit respecto a la localidad de captura, la edad, el sexo o la ingestión de perdigones. En el caso de que variase en función de la localidad se estudió el efecto que el sexo, la edad o la ingestión de perdigones de plomo pudieran tener sobre el grit en cada una de las zonas. Para este análisis se ha utilizado un análisis de la varianza, que en el caso de algunas especies no ha incluido el factor edad por la falta de valores para gran parte de los individuos.

#### **2.4.2.2. - Análisis interespecífico**

Se estudiaron las diferencias en las prevalencias de las diferentes especies de una misma zona para establecer un orden de afectación mediante pruebas de  $X^2$ . En una de las zonas muestreadas, el Delta de 1, Ebre, se ha estudiado un número suficiente de especies ( $n= 8$ ), lo que ha permitido realizar un análisis de datos entre ellas. Concretamente se estudiaron los factores que pueden influir en la predisposición de la especie al plumbismo. Para ello se estudió la correlación existente entre el peso o la proporción de las diferentes fracciones de grit y la prevalencia de la intoxicación, considerada como la ingestión de perdigones. De esta forma se puede averiguar cuál es el efecto de la selección de diferentes tipos de grit en la ingestión de perdigones. Otro factor que también puede incidir en la ingestión de perdigones es el tipo de alimentación de las aves, por lo que también se ha correlacionado la dieta, expresada como la frecuencia con que aparecían diferentes tipos de alimento en las mollejas analizadas de cada especie (arroz, grano en general, hierba y gasterópodos), con la prevalencia. Por último se ha estudiado la relación entre la dieta y las diferentes fracciones de grit mediante una correlación lineal.