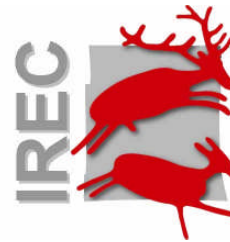




Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España 2010-2013



REAL FEDERACIÓN ESPAÑOLA DE CAZA



**Informe Final II Temporada
(Marzo 2011 – Marzo 2012)**

Ciudad Real, Mayo 2012



Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

CONTENIDOS

Datos sobre el proyecto	3
Presentación	4
Antecedentes	6
Objetivos y justificación	11
Metodología	12
Resultados	24
Conclusión	34
Difusión de resultados y direcciones futuras	37
Referencias	39



DATOS SOBRE EL PROYECTO

Título del proyecto

Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

Institución ejecutora

Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos (CSIC-UCLM-JCCM)

Financiación

Fundación para el Estudio y Defensa de la Naturaleza y la Caza (FEDENCA) y Oficina Nacional de la Caza (ONC), con la colaboración de la Fundación Biodiversidad

Coordinación Proyecto por patrocinadores

José Luis Garrido Martín, Director General de FEDENCA.

Investigador principal

Rafael Mateo Soria, Profesor Titular de Universidad

Investigadores participantes

François Mougeot, Científico Titular

Manuel Ortiz Santaliestra, Investigador Postdoctoral

Ana López-Antia, Becaria Predoctoral



PRESENTACIÓN INFORME II TEMPORADA

La perdiz roja silvestre (*Alectoris rufa*) camina hacia la desaparición en nuestros territorios más humanizados, entre otros varios motivos, por exceso de actividades agrícolas y aplicaciones fitosanitarias. También llevan el mismo camino todas las esteparias y el resto de aves granívoras. Podríamos resumir que la agricultura es determinante para el estado poblacional de nuestra fauna avícola.

Esto ya lo habíamos sospechado hacía tiempo los cazadores. Por eso se decidió por la Oficina Nacional de la Caza (ONC) y la Real Federación Española de Caza (RFEC) iniciar este proyecto que patrocinan ambas y dirige y coordina para la propiedad la fundación FEDENCA. Los resultados nos han dado motivos para la denuncia. Este informe da fe de las maldades del Imidacloprid, un insecticida que es letal para las perdices en la dosis recomendable para blindar las semillas. Otros informes apuntan a este producto como el responsable también de la muerte de las abejas. El Imidacloprid no sólo mata a las perdices adultas que se alimenten durante unos veinte días con semillas tratadas, sino que cuando la dosis es menor afecta a los adultos supervivientes que quedan anoréxicos y a los pollos de estos, que tienen muy limitada la supervivencia. El fungicida Tiram en determinadas dosis también pone en riesgo a nuestras perdices y demás especies.

Parece mentira que estos dos productos tan dañinos estén autorizados en Europa y en España, lo que nos hace sospechar que priman más los intereses comerciales que los medioambientales. A todo esto ¿qué hacen los sedicentes custodios y defensores de la naturaleza, además de denunciar nuestras órdenes de caza?

Hay alternativas con otros insecticidas y fungicidas menos agresivos, que también se han comprobado en este proyecto. Es recomendable que las autoridades pongan freno a los productos más agresivos, recomienden o primen los más livianos. También sería recomendable pedir a quienes dicen preocuparse del medio ambiente, que la denuncia no sea sólo de los cazadores.



Por parte de FEDENCA hemos remitido toda la información anterior del proyecto y también enviaremos en breve ésta que tienes en tus manos, a todas las Consejerías y Direcciones Generales de Agricultura y de Medio Ambiente de España. También al MAGRAMA y a las direcciones *generales* afectas. Ellos tienen los medios para controlar estos productos que matan a todas las granívoras (cinegéticas y protegidas). Nosotros seguiremos informando y denunciando.

Recientemente la Fiscalía General de Medio Ambiente y Urbanismo citó a la Federación de Caza de Castilla y León, para que explicara al fiscal la nota de prensa en la que se denunciaba el tratamiento de los topillos con quemas y veneno. Aprovechamos esa reunión para informar de este proyecto y de las consecuencias de estos productos para las especies y el medio ambiente. Sobre él estuvieron especialmente interesados en esa fiscalía, muy sensible con el medio ambiente y muy responsable con su cometido, como pudimos observar los representantes de las federaciones, autonómica y española, así como la Fundación FEDENCA, que asistimos a informar.

José Luis Garrido
Director General de FEDENCA



ANTECEDENTES

Las aves de ambientes agrícolas han experimentado un declive pronunciado en Europa occidental desde hace ya varias décadas. Diversos estudios realizados en Reino Unido sobre una especie cinegética como es la perdiz pardilla (*Perdix perdix*) ya indicaban hace años que los cambios experimentados en la agricultura en la segunda mitad del siglo XX habían producido una disminución significativa de la abundancia de la especie. Tanto el número de aves cazadas cada año como los censos realizados en primavera mostraban idénticas tendencias (Sotherton, 1998; Greenwood, 2003). Esta misma tendencia ha sido observada en otras especies no cinegéticas que habitan ambientes agrícolas como la avefría (*Vanellus vanellus*), la alondra común (*Alauda arvensis*), la calandria (*Melanocorypha calandra*) o el sisón común (*Tetrax tetrax*) (Salamaolard & Moreau, 1999; Brickle *et al.* 2000; Sheldon *et al.*, 2004; EBCC, 2009). En el caso de la perdiz roja (*Alectoris rufa*), la tendencia de las poblaciones naturales es difícil de establecer debido a las numerosas sueltas de perdices de granja que dificultan la tarea de realizar seguimientos fiables de la evolución de los tamaños de población, pero la sensación generalizada es que cada vez son más escasas las perdices rojas salvajes en nuestros campos (Blanco-Aguilar *et al.*, 2003).

Estas tendencias negativas asociadas a las aves que viven en ambientes agrícolas contrastan con lo observado para otras especies de aves como por ejemplo las forestales, cuyas poblaciones en Europa se han mantenido relativamente estables durante las últimas décadas (Greenwood, 2003; SEO/BirdLife 2010). Así, dado que la intensificación agrícola es el nexo de unión de entre todas las especies cuyas poblaciones están en declive, todos los datos existentes indican que dicha intensificación estaría teniendo un impacto negativo en las especies de aves de medios agrícolas.

La transformación del medio es el principal impacto de la intensificación agrícola sobre las comunidades de aves; la modificación de los terrenos para su uso agrícola conlleva una reducción en la diversidad de hábitats (y en consecuencia, de la biodiversidad asociada a estos hábitats), disminución de los recursos alimenticios, pérdida de zonas de cría y refugios, etc. Sin embargo, uno de los impactos asociados a la actividad agrícola

cuya importancia a este nivel ha adquirido niveles considerables es el uso de productos fitosanitarios (ver revisión en López-Antia *et al.*, 2011).

El efecto principal e inmediato del uso de fitosanitarios es debido a su capacidad para reducir la disponibilidad de alimentos para las aves o para sus presas. En este sentido, estudios llevados a cabo en el Reino Unido han demostrado que el control en la aplicación de plaguicidas sobre campos de cereal conllevaba un aumento significativo del éxito reproductor de la perdiz pardilla y la supervivencia de los pollos se incrementaba por encima de los valores mínimos que asegurarían el mantenimiento de la población. Por el contrario, en campos con un tratamiento convencional con fitosanitarios, el éxito reproductor y la supervivencia de los pollos serían demasiado bajos como para asegurar la estabilidad de las poblaciones (Rands, 1985).

Aparte de los efectos sobre la disponibilidad de alimento, los plaguicidas usados en la agricultura pueden producir efectos adversos en las aves actuando de diferentes maneras. Por ejemplo, los insecticidas organofosforados y carbamatos o los rodenticidas anticoagulantes presentan una elevada toxicidad aguda, causando efectos inmediatos tras periodos cortos de exposición. Por otra parte, los insecticidas organoclorados afectan de forma muy clara al éxito reproductor de las aves al alterar la formación de la cáscara de los huevos (Mateo *et al.* 2000; Mañosa *et al.* 2003). Hoy en día, aunque la mayoría de insecticidas organoclorados han sido prohibidos en España, existen otros muchos compuestos en uso de diversas familias químicas de los que se ha reconocido su actividad como disruptores endocrinos con efectos adversos sobre el sistema hormonal y alteradores de la capacidad reproductiva.

Una serie de productos fitosanitarios de diferentes tipos se utilizan para lo que se conoce como blindaje de semillas. El blindaje de semillas consiste en tratar las simientes de cereal antes de su siembra con compuestos químicos para evitar infecciones por hongos, parásitos y el ataque de los insectos del suelo. Muchas aves granívoras en determinados momentos del año pueden basar su alimentación en el consumo de semillas que, durante el



Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

proceso de siembra, no penetran lo suficiente en el suelo. En algunos casos, además, el consumo de semillas puede verse puntualmente estimulado por la falta de otros tipos de alimento. Un ejemplo lo encontramos en el caso de los gansos piquicorto (*Anser brachyrhynchus*) y común (*Anser anser*) que invernán en Escocia y las semillas tratadas con carbofenotión. Los gansos no suelen acceder a estas semillas pero de 1971 a 1975 se registraron 1.492 muertes de estas especies por la ingestión de simiente tratada con el organofosforado. Factores como la escasez de su alimento habitual, el derrame de semillas que las hace más accesibles o la mayor humedad en el suelo que hace más fácil arrancar las semillas recién germinadas consiguieron que en pocos años desapareciera una parte significativa de la población mundial de estas especies (Stanley & Bunyan, 1979).

Tabla 1: Listado de productos fitosanitarios registrados por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino para el tratamiento de simiente de cereal (actualizado en Junio de 2010).

Producto o mezcla	Uso	Arroz	Avena	Cebada	Centeno	Trigo	Sorgo	Maíz	Girasol
Acetato de guazatina	Fungicida	-	+	+	-	+	-	-	-
Carboxina	Fungicida	-	+	+	-	+	+	+	-
Carboxina + tiram	Fungicida	+	+	+	+	+	+	-	-
Difenoconazol	Fungicida	-	-	+	-	+	-	-	-
Fludioxonil	Fungicida	-	-	+	-	+	-	+	-
Fludioxonil + metalaxil	Fungicida	-	-	-	-	-	-	+	-
Flutriafol	Fungicida	-	-	+	-	+	-	-	-
Flutriafol + maneb	Fungicida	-	-	+	-	+	-	-	-
Himexazol	Fungicida	+	-	+	-	+	-	+	-
Mancozeb	Fungicida	-	+	+	+	+	+	-	-
Maneb	Fungicida	-	+	+	-	+	+	+	-
Metalaxil	Fungicida	-	-	-	-	-	-	-	+
Oxicloruro de cobre	Fungicida	-	+	+	-	+	-	-	-
Tebuconazol	Fungicida	-	+	+	+	+	-	-	-
Tiram	Fungicida	-	+	+	+	+	+	-	+
Triticonazol	Fungicida	-	-	+	-	+	-	-	-
Clotianidina	Insecticida	-	-	-	-	-	-	+	-
Fipronilo	Insecticida	-	-	-	-	-	-	+	+
Imidacloprid	Insecticida	-	+	+	+	+	+	+	-

En la actualidad, según el registro de productos fitosanitarios del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino se utilizan para el tratamiento de semilla de siembra de cereales un total de 19 compuestos diferentes de los cuales 16 son fungicidas y los tres restantes son insecticidas (Tabla 1). Durante el periodo de siembra del cereal, en otoño, las aves presentes en ambientes agrícolas consumen las semillas que, durante la siembra, no penetran lo suficiente en el suelo. Dada la escasez de grano y otros recursos



Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

alimenticios durante esa época del año, las semillas de siembra pueden constituir un porcentaje muy elevado de la dieta de estos animales. Hasta ahora, los efectos sobre las perdices y otras aves agrícolas que consumen semillas tratadas con fungicidas o insecticidas han permanecido casi desconocidos. La ingesta de estas semillas, dependiendo del tipo de compuesto y la dosis con que hayan sido tratadas así como de la cantidad ingerida, podría acarrear consecuencias graves, desde la pérdida de condición corporal, pasando por la alteración del metabolismo, la disrupción del sistema endocrino o la disminución de la eficacia de la respuesta inmunológica, hasta llegar a la reducción del éxito reproductor o incluso la muerte del individuo.

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN

Con este proyecto queremos identificar experimentalmente los posibles efectos adversos de la ingestión de semillas tratadas con compuestos fitosanitarios sobre la salud de la perdiz roja (*Alectoris rufa*). Utilizaremos la misma vía de exposición que existe en el medio natural, es decir, los fitosanitarios serán aplicados sobre semillas de trigo que posteriormente se administrarán a las perdices como alimento. Con el fin de identificar los efectos de cada plaguicida individualmente, se utilizará grano tratado con un solo plaguicida, si bien en el campo pueden estar utilizándose mezclas de un fungicida y un insecticida y por lo tanto existir sinergias entre ellos.

Para el conjunto de los tres años de duración prevista del proyecto, pretendemos centrar el estudio en ocho compuestos utilizados para el tratamiento de simiente de cereales (avena, cebada, maíz y trigo). Del total de productos aprobados por el MMAMRM para este uso (Tabla 1) hemos seleccionado aquellos que son más susceptibles de causar efectos a nivel poblacional, bien al actuar como disruptores endocrinos, afectando por tanto a la reproducción, bien al deprimir el sistema inmune facilitando así el desarrollo de enfermedades que en última instancia puede desembocar en epidemias, o bien por ser de mayor toxicidad aguda y por lo tanto capaces de producir la muerte directa de las aves. No obstante, debemos señalar que el registro de productos fitosanitarios se actualiza regularmente, y que algunos compuestos que hoy están aprobados pueden ser prohibidos en un futuro próximo, del mismo modo que sustancias de nueva aparición pueden pasar a integrar la lista de compuestos aprobados para el tratamiento de semillas. Los cambios en el registro de productos fitosanitarios serán evidentemente tenidos en cuenta a la hora de diseñar los experimentos a desarrollar cada año.

METODOLOGÍA

Compuestos analizados

Hasta la fecha se han desarrollado tres experimentos, los dos primeros correspondientes a los periodos de reproducción y cría de la primavera-verano de 2010 y 2011, respectivamente, y un tercer ensayo iniciado en enero de 2012 y que se prolongará hasta finales del verano del presente año.

En el periodo que abarca el presente informe se exponen, por tanto, los resultados principales del experimento desarrollado en 2011 (experimento 2) y los datos preliminares del que se está desarrollando en 2012 (experimento 3). En el experimento llevado a cabo durante la primavera y verano de 2011 se analizaron los efectos de cuatro compuestos: dos fungicidas (tiram y maneb) y dos insecticidas (imidacloprid y piretrinas naturales). En el experimento desarrollado en 2012 se están analizando otros tres fungicidas (oxicloruro de cobre, flutriafol y tebuconazol) y un nuevo insecticida, (fipronilo).

En cada caso se utilizó un preparado comercial basado en cada uno de los principios activos correspondientes, a excepción del fipronilo, para el que se adquirieron semillas de maíz directamente tratadas.

Se utilizaron los siguientes preparados comerciales:

- Pormasol Forte (Bayer CropScience): 80% tiram.
Registro de Productos Fitosanitarios 12.005/11
- Escocet (Bayer CropScience): 35% imidacloprid
Registro de Productos Fitosanitarios 19.188
- Sembral Maneb (Cequisa): 40% maneb.
Registro de Productos Fitosanitarios 15.476
- Granet-L (Comercial Química Massó) : 5% Piretrinas (extracto de pelitre)
Registro de Productos Fitosanitarios 16.194
- Vincit 25 (Cheminova Agro): 2,5% flutriafol
Registro de Productos Fitosanitarios 24.651

- Tansil (Sharda Europe): 2,5% tebuconazol
Registro de Productos Fitosanitarios 24.774
- Cupagrex (Desarrollo Químico Industrial): 16% oxiclورو de cobre
Registro de Productos Fitosanitarios 16.877

Para cada compuesto se utilizaron dos concentraciones distintas, la más alta de ellas correspondiente a la dosis de aplicación recomendada (100%), y una concentración baja que se estableció en un 20% de la dosis recomendada, en concordancia con los datos recopilados en la literatura sobre porcentaje de semillas en la dieta de la perdiz roja (Pérez y Pérez, 1980). Dichas concentraciones quedaron establecidas como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2: concentraciones experimentales utilizadas en el estudio.

Compuesto	Concentración baja (20% dosis recomendada)	Concentración alta (100% dosis recomendada)
Tiram	70 cc Tiram 50% / Qm semillas	350 cc Tiram 50% / Qm semillas
Maneb	70 cc Maneb 40% / Qm semillas	350 cc Maneb 40% / Qm semillas
Imidacloprid	40 cc Imidacloprid 35% / Qm semillas	200 cc Imidacloprid 35% / Qm semillas
Piretrinas	20 g Granet / Qm semillas	100 g Granet / Qm semillas
Flutriafol	50 cc Flutriafol / Qm semillas	250 cc Flutriafol / Qm semillas
Tebuconazol	24 cc Tebuconazol / Qm semillas	120 cc Tebuconazol / Qm semillas
Oxic. cobre	40 g Ox. Cobre 16% / Qm semillas	200 g Ox. Cobre 16% / Qm semillas

En el caso del fipronilo se empleó una única concentración experimental que consistió en una mezcla de semillas tratadas (20%) y sin tratar (80%).

Animales en estudio

Experimento 2

Se emplearon 144 parejas de perdices adultas, todas ellas de un año de edad, procedentes de la colonia procedentes de la colonia ubicada en la granja de Chinchilla

(Albacete) y proporcionadas por la Junta de Comunidades de Castilla – La Mancha.. La exposición de las perdices se llevó a cabo en las instalaciones existentes en la finca Dehesa de Galiana para la cría de esta especie (Fig. 1). Todas las perdices se midieron (longitud del tarso) y pesaron antes de comenzar el experimento.



Figura 1: Parque para la cría de perdices en la finca Dehesa de Galiana.

Experimento 3

Se emplearon 117 parejas de perdices adultas, todas ellas de un año de edad, adquiridas al Grupo Altube. La exposición de las perdices se llevó a cabo en las mismas instalaciones que en el experimento 2. Todas las perdices se midieron (longitud del tarso) y pesaron antes de comenzar el experimento.

Exposición a los fitosanitarios

Experimento 2

Las 144 parejas se dividieron en nueve grupos de 16 parejas cada uno. Ocho grupos se asignaron a los tratamientos experimentales: 1) tiram conc. baja, 2) tiram conc. alta, 3) maneb conc. baja, 4) maneb conc. alta, 5) imidacloprid conc. baja,

6) imidacloprid conc. alta, 7) piretrinas conc. baja y 8) piretrinas conc. alta. El noveno grupo se utilizó como control, siendo las perdices alimentadas con semillas que, en lugar de haber sido tratadas con las disoluciones detalladas en la Tabla 2, fueron tratadas únicamente con agua.

Se llevaron a cabo dos periodos de exposición, consistentes en la alimentación de las perdices con semillas tratadas; un primer periodo de 25 días de duración entre noviembre y diciembre y un segundo periodo de 10 días en la primera mitad del mes de marzo, coincidiendo dichos periodos con la época de siembra de las variedades de cereal de ciclo largo y ciclo corto, respectivamente. El resto del tiempo los animales fueron alimentados con una mezcla de pienso y semillas libres de plaguicidas, similar para todas las parejas.

Tras finalizar cada uno de los periodos de exposición, se extrajo una muestra de sangre de cada perdiz que fue centrifugada para separar el plasma de la fracción celular.

Experimento 3

Las 117 parejas se dividieron en nueve grupos de 13 parejas cada uno. Seis grupos se asignaron a los tratamientos experimentales de los tres fungicidas testados: 1) tebuconazol conc. baja, 2) tebuconazol conc. alta, 3) flutriafol conc. baja, 4) flutriafol conc. alta, 5) oxicloruro de cobre conc. baja, 6) oxicloruro de cobre conc. alta. El séptimo grupo se utilizó como control para estos tratamientos, siendo las perdices alimentadas con semillas que, en lugar de haber sido tratadas con las disoluciones detalladas en la Tabla 2, fueron tratadas únicamente con agua. La exposición a los fungicidas se prolongó durante 25 días en el mes de enero.

Los grupos octavo y noveno se utilizaron en el ensayo de exposición al fipronilo; al ser éste un fitosanitario cuyo uso mayoritario es el tratamiento de simiente de maíz, se emplearon semillas de esta especie en lugar del trigo utilizado en otros ensayos. El grupo de exposición al fipronilo fue alimentado con una mezcla de semillas de maíz tratadas (20%) y

sin tratar (80%) mientras que el grupo control fue alimentado durante el periodo de exposición únicamente con semillas de maíz. El resto del tiempo los animales fueron alimentados con una mezcla de pienso y semillas libres de plaguicidas, similar para todas las parejas. La exposición al fipronilo se prolongó durante 10 días en el mes de abril.

Toma de variables

1) Mortalidad

Se anotó el día exacto de la muerte y se practicó una necropsia a cada una de las perdices que murieron tanto durante los periodos de exposición, como durante los periodos posteriores.

2) Biometría

Uno de los primeros efectos subletales que aparecen como consecuencia de la exposición a un tóxico es la pérdida de peso, la cual puede venir motivada por dos razones no excluyentes; por un lado, los animales podrían perder el apetito y rechazar el alimento al sentirse enfermos; por otro lado, los procesos que se desencadenan en el organismo para metabolizar y eliminar las sustancias tóxicas (lo que se conoce como detoxificación) requieren un gasto energético que, si no se compensa con una mayor ingesta de alimento, termina por reflejarse en una pérdida de peso. El balance energético es algo fundamental porque nos indica que la energía que el animal emplea en la detoxificación no puede ser empleada en otros procesos fundamentales como la reproducción o la respuesta inmune.

Además de la longitud del tarso y la masa corporal tomadas antes del inicio de la exposición, todas las perdices se pesaron nuevamente en el momento de finalizar cada periodo de exposición. El índice de masa corporal se calculó en cada caso como el cociente entre la masa y el cuadrado de la longitud del tarso.

3) Ornamentación

Como cualquier coloración u ornamentación que depende de los carotenoides, la intensidad de la coloración del pico y el anillo ocular así como el porcentaje de pigmentación del anillo ocular, constituyen medidas indirectas de la condición del individuo. Se midió la coloración del pico y anillo ocular de todos los animales tanto antes de la exposición a los plaguicidas como una vez finalizada ésta mediante un espectrofotómetro portátil. Los resultados correspondientes esta variable no han sido analizados en el momento de redacción del presente informe.

4) Hematocrito

El hematocrito es la proporción de volumen sanguíneo ocupado por glóbulos rojos. Un hematocrito bajo es indicativo de anemia. El hematocrito se obtuvo centrifugando una pequeña cantidad de sangre para separar los glóbulos blancos del resto y midiendo el volumen que éstos ocupaban respecto del total de la muestra.

5) Metabolismo antioxidante

Un efecto muy común de un gran número de compuestos tóxicos a nivel fisiológico es el estrés oxidativo. Los procesos de detoxificación que se desencadenan cuando el compuesto entra en el organismo dan lugar a los llamados radicales libres, que son sustancias con una elevada capacidad de oxidación de las diferentes moléculas que forman parte del organismo. Este estrés o daño oxidativo puede cuantificarse mediante el uso de diferentes biomarcadores. En este estudio hemos utilizado cuatro marcadores de estrés oxidativo: TBARS, relación entre glutatión oxidado y reducido, y dos enzimas antioxidantes. Todos estos marcadores se midieron utilizando la fracción celular de las muestras de sangre obtenidas a lo largo del estudio.

TBARS (sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico): mediante el análisis de TBARS se mide el grado de peroxidación de lípidos, proceso que consiste en que los radicales libres captan electrones de los lípidos que constituyen las membranas celulares, degradándolos y, en consecuencia, poniendo en peligro la integridad celular. La determinación de los TBARS se realizó mediante un protocolo que consiste en hacer reaccionar la muestra con el ácido tiobarbitúrico dando lugar a malondialdehído, una sustancia con un color rosado que puede cuantificarse mediante espectrofotometría.

Relación entre glutatión oxidado y reducido: el glutatión (GSH) es un pequeño péptido que juega un papel fundamental al reaccionar con los radicales libres que se producen en el interior de la célula, transformándolos o integrándolos en moléculas incapaces de producir daño oxidativo. Como consecuencia de estas reacciones, el glutatión se transforma en disulfuro de glutatión (GSSG), que es su forma oxidada. La proporción entre glutatión oxidado y reducido siguiendo el modelo $GSSG / 2GSH$ es una medida de estrés oxidativo en el interior de las células. Tanto el GSH como el GSSG se analizaron mediante una valoración espectrofotométrica. La relación entre glutatión oxidado y reducido se calculó de acuerdo a la fórmula $GSSG / 2GSH$.

Enzimas antioxidantes: la enzima superóxido dismutasa (SOD) es la principal encargada de eliminar los radicales libres de oxígeno al incorporar los átomos de oxígeno a una molécula de agua para dar lugar a peróxido de hidrógeno (agua oxigenada). Este peróxido de hidrógeno puede ser eliminado de diferentes maneras, una de las cuales incluye la oxidación del glutatión reducido, dando lugar a glutatión oxidado. Esta reacción está catalizada por la enzima glutatión peroxidasa (GPx). Tanto la actividad SOD como la actividad de la GPx se analizaron mediante valoraciones espectrofotométricas, expresándose dicha actividad en función de la cantidad de proteínas totales presentes en el extracto de las células sanguíneas.

Las muestras correspondientes al **experimento 2** se están analizando en el momento de redacción de este informe, mientras que las del **experimento 3** todavía no han sido analizadas.

6) Vitaminas y carotenoides

El plasma obtenido en cada sangrado se empleó para analizar el contenido de vitaminas (retinol, tocoferol y retinol palmitato) y carotenoides (luteína y zeaxantina). La extracción de estos compuestos de las muestras de plasma se llevó a cabo con hexano y su separación y cuantificación se realizó mediante una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Las muestras obtenidas para estos análisis todavía no han sido analizadas en el momento de redacción del presente informe.

7) Respuesta inmune celular

La respuesta inmune celular depende de los linfocitos T, los cuales son atraídos hacia el lugar donde aparece un antígeno (bacteria, virus, etc...) gracias a la acción de una sustancia llamadas citoquinas que producen una inflamación localizada en la zona de infección. Mediante la aplicación intencionada de un antígeno, esta inflamación puede cuantificarse y conocer así la capacidad del organismo de desarrollar una respuesta inmune celular.

Para el análisis de la respuesta inmune celular, utilizamos la prueba de la fitohemaglutinina (PHA), que consiste en la inyección de 100 µl de una dilución 1:10 de esta proteína de origen vegetal en el patagio de una de las alas. La PHA actúa como un antígeno, desencadenando una respuesta inmune celular que se manifiesta externamente en una inflamación del área en la que se inyectó la PHA. Utilizando un calibre de espesor, se midió el grosor del patagio antes de la inyección; 24 horas después (cuando se supone que la inflamación ha alcanzado su máximo nivel), se volvió a medir la misma zona, anotándose el grado de inflamación. La inyección de la PHA se llevó a cabo 34 días después de la finalización de la primera exposición a los plaguicidas en el **experimento 2** y 10 días después de la finalización de la exposición en el **experimento 3**.

8) Hormonas sexuales

En las muestras de plasma obtenidas se realizó una cuantificación de las hormonas esteroideas (testosterona y estradiol) con el fin de detectar posibles casos de disrupción endocrina. Dicha cuantificación se llevó a cabo mediante ensayos por inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISAs) mediante kits comerciales preparados a tal efecto.

Las muestras obtenidas para estos análisis todavía no han sido analizadas en el momento de redacción del presente informe.

9) Reproducción (aplicable únicamente al **experimento 2** en el momento de redacción de este informe)

Los huevos se recogieron diariamente y se fueron introduciendo en incubadoras por tandas cada 15 días, manteniéndose en una cámara fría mientras esperaban a entrar en la incubadora. Tras tres semanas de incubación, se realizaba una prueba de luz con el fin de observar si el feto había crecido en el interior del huevo. En el caso de que así fuera, el huevo era introducido en una jaula individual convenientemente etiquetada la cual, a su vez, pasaba a una cámara de nacimientos. Los pollos se midieron y pesaron en el momento de su eclosión, así como a los 8, 16, 24 y 32 días de vida. Todos los huevos que no pasaron la prueba de la luz o que aun habiéndola pasado no llegaron a eclosionar fueron abiertos con el fin de comprobar si estaban fecundados y para tomar las preceptivas medidas sobre el grosor de la cáscara. Los efectos de los plaguicidas administrados a las perdices adultas sobre su reproducción y el crecimiento de sus pollos (que, recordemos, nunca fueron expuestos directamente a los plaguicidas) se analizaron mediante una serie de variables que relacionamos a continuación:

- Fertilidad: porcentaje de hembras que pusieron algún huevo y tamaño medio de puesta por hembra.
- Tasas de fecundación de los huevos: para calcular dichas tasas, aquellos huevos en los que el embrión no se desarrolló fueron abiertos para comprobar la presencia o no de disco germinal, indicador del carácter fecundado del huevo.

- Tamaño de los huevos, considerándose la longitud o distancia máxima en el plano meridiano y la anchura o distancia máxima en el plano ecuatorial. Cada una de estas medidas se tomo por duplicado para minimizar en lo posible los errores de medición. Debemos notar que en el artículo publicado hace unos meses ya se presentaban algunos datos relativos a estas variables, si bien los resultados mostrados ahora son de carácter definitivo ya que en ellos se incluyen todos los huevos que pudieron ser medidos.
- Grosor de la cáscara. Se tomaron tres piezas de la zona ecuatorial del huevo; tras eliminar la membrana se midió el espesor de cada una de las piezas por triplicado. El grosor de la cáscara se calculó como el valor medio de todas las mediciones.
- Tasa de eclosión de los huevos relativa al número de huevos fecundados.
- Tasas de supervivencia de pollos tras 8, 16, 24 y 32 días después de la eclosión.
- Crecimiento de los pollos. En el momento de la eclosión, así como tras 8, 16, 24 y 32 días, se tomó la longitud del tarso y se pesó a cada pollo, calculándose así mismo la condición corporal.
- Respuesta inmune celular. Se analizó a los 8 días de vida en un grupo separado de pollos que no fue utilizado para el seguimiento del crecimiento. El procedimiento empleado fue idéntico al descrito para los adultos.
- Respuesta inmune humoral. Llamada así porque en este caso los linfocitos no son los responsables directos de la destrucción del antígeno, sino que son unas proteínas, conocidas como inmunoglobulinas o anticuerpos, sintetizadas por los propios linfocitos y que aparecen en el exterior de la célula. Esta respuesta depende de los linfocitos B, y la cantidad de anticuerpos sintetizados por estos linfocitos B tras una inoculación intencionada de un antígeno puede cuantificarse incubando dicho antígeno junto a una muestra de plasma obtenida del organismo que fue inoculado. Para el análisis de la respuesta inmune humoral, se tomó una muestra de sangre de una de las ovejas estabuladas en la Finca Dehesa de Galiana. Tras obtener el hematocrito de dicha muestra, se preparó una dilución al 20% de glóbulos rojos utilizando PBS como diluyente. La sangre de la oveja actuó como antígeno, desencadenando la respuesta inmune humoral, esto es, la producción de anticuerpos.

A los ocho días de vida, se inyectó intraperitonealmente un volumen de 100 μ l de esta solución a cada uno de los pollos separados para realizar esta prueba específica. Ocho días después se extrajo una muestra de sangre de cada uno de los pollos, separándose el plasma. De cada muestra se prepararon diluciones seriadas de plasma (desde la dilución más concentrada plasma : diluyente 1:1 hasta la más diluida 1:1024), las cuales se incubaron con una dilución al 0,5% de glóbulos rojos de sangre de la misma oveja utilizada para inyectar en los pollos. Con la incubación permitimos que los anticuerpos sintetizados por los pollos, presentes en el plasma, reaccionaran con el antígeno para el cual habían sido sintetizados (la sangre de la oveja). Tras la incubación, se observó cuál era la dilución de plasma más baja a la que se había producido una reacción anticuerpo-antígeno, lo cual promocionaría una medida de la cantidad de anticuerpos sintetizados. Dicha dilución se expresó en forma de “título” (\log_2 de la concentración de plasma).

10) Consumo de semillas tratadas

Durante el desarrollo de los primeros experimentos llevados a cabo como parte del presente proyecto se llegó a la conclusión de la importancia de separar aquellos efectos negativos producidos por la intoxicación de las perdices al consumir las semillas blindadas de los efectos que pudiesen ocasionarse por un rechazo del alimento tratado. Con este fin, durante el experimento 3 se pesó el alimento suministrado a cada pareja de perdices al iniciarse la exposición y el que quedó en las tolvas una vez éstas fueron retiradas al finalizar la exposición; del mismo modo, se colocaron bolsas debajo de las jaulas para recoger el trigo que pudiesen tirar las perdices y ajustar así de la manera lo más precisa posible la cantidad de alimento consumido en cada caso.

Análisis de datos

Las tasas de mortalidad acumuladas tanto de adultos como de pollos se compararon mediante un test de Mantel Cox utilizando el estadígrafo de chi-cuadrado. Del mismo modo, las tasas de fecundación y eclosión se compararon entre tratamientos utilizando un test de



chi-cuadrado. El resto de las variables se transformaron logarítmicamente y se analizaron mediante modelos lineales generales (GLM) introduciendo la concentración de cada plaguicida como factor fijo. En las variables tomadas en perdices adultas, se introdujo también el sexo como un factor en el GLM.

RESULTADOS

1) Mortalidad

El imidacloprid resultó altamente tóxico para las perdices. La totalidad de los animales alimentados con una dosis de imidacloprid similar a la recomendada para el tratamiento de semillas murieron antes de concluir el primer periodo de exposición. Ni el resto de los plaguicidas analizados en este experimento ni la concentración más baja de imidacloprid produjeron efectos letales significativos (Tabla 3).

Tabla 3: Tasas de mortalidad por tratamiento en ambos experimentos.

Tratamiento	Dosis ^a	Experimento 2	Experimento 3
Control		6.9	0.0 ^b
			3.8 ^c
Maneb	20%	20.0	
	100%	19.4	
Tiram	20%	10.3	
	100%	17.2	
Imidacloprid	20%	18.8	
	100%	100.0*	
Piretrinas	20%	9.4	
	100%	19.4	
Flutriafol	20%		0.0
	100%		0.0
Tebuconazol	20%		0.0
	100%		0.0
Oxicloruro de cobre	20%		0.0
	100%		0.0
Fipronilo	20%		11.1

^a Valores en % de la dosis recomendada

^b Control para los ensayos con fungicidas

^c Control para el ensayo con fipronilo

2) Biometría

En el **experimento 2**, tanto la concentración baja de imidacloprid como la alta de maneb, correspondiente en este caso a la dosis de aplicación recomendada para simiente de cereal, causaron una reducción significativa de la masa de las perdices tras los 25 días del primer periodo de exposición (Fig. 2).

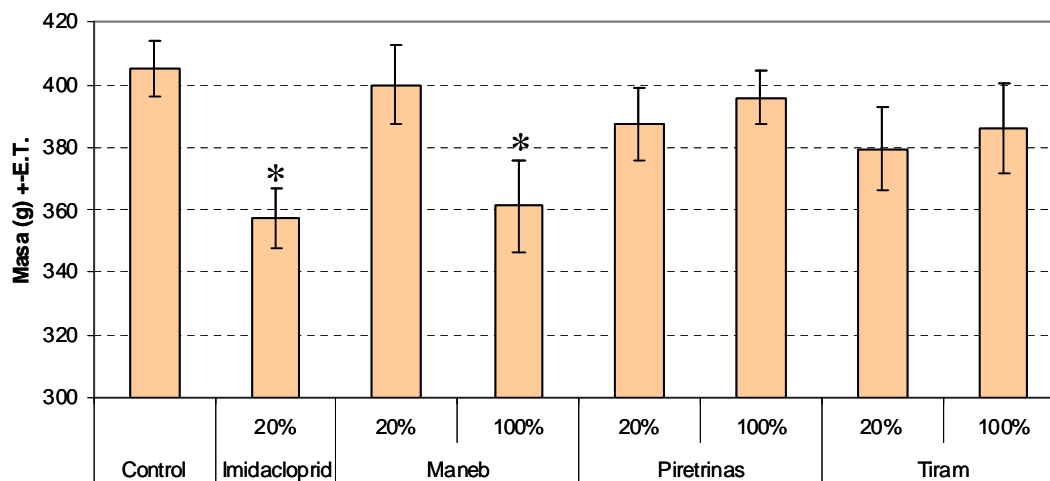


Figura 2: masa corporal (en g) por tratamiento al término de la exposición en el experimento 2. Los asteriscos indican los tratamientos para los que se detectó una masa estadísticamente inferior a la de los controles. No se muestran resultados para el tratamiento con Imidacloprid 100% porque no hubo supervivientes.

En el experimento 3, únicamente la alimentación con semillas tratadas con fipronilo redujo de manera significativa la condición corporal de las perdices expuestas (Fig. 3)

3) Ornamentación

En el momento de redacción del presente informe todavía no se dispone de resultados definitivos referentes a este apartado para los experimentos 2 y 3.

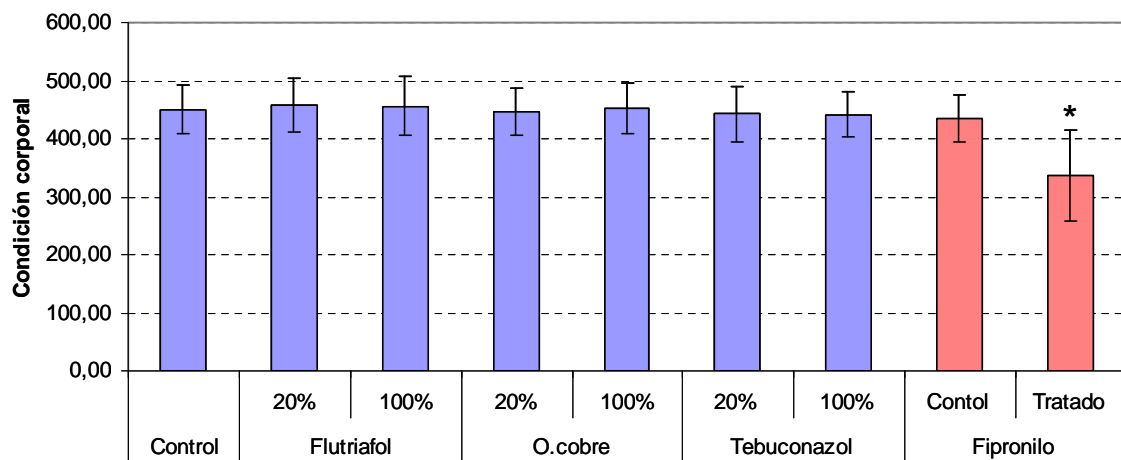


Figura 3: condición corporal por tratamiento al término de la exposición en el experimento 3. Los asteriscos indican los tratamientos para los que se detectó una masa estadísticamente inferior a la de los controles.

4) Hematocrito

No se han hallado efectos significativos de ninguno de los plaguicidas sobre esta variable. Debemos considerar, no obstante, que el efecto del fipronilo sobre esta variable no fue analizado.

5) Metabolismo antioxidante

En el momento de redacción del presente informe todavía no se dispone de resultados referentes a este apartado para los experimentos 2 y 3.

6) Vitaminas y carotenoides

En el momento de redacción del presente informe todavía no se dispone de resultados referentes a este apartado para los experimentos 2 y 3.

7) Respuesta inmune celular

La administración de semillas tratadas con fipronilo causó una disminución de la capacidad para desarrollar una respuesta inmune celular (Fig. 4). Resulta especialmente interesante que fueran únicamente los machos los que sufrieran el efecto inmunosupresor del insecticida, tal vez relacionado con el mayor esfuerzo realizado por los machos durante las semanas previas a la reproducción, periodo en el que sus reservas energéticas se dirijan preferentemente al desarrollo de exhibiciones nupciales, comprometiendo así otras funciones vitales.

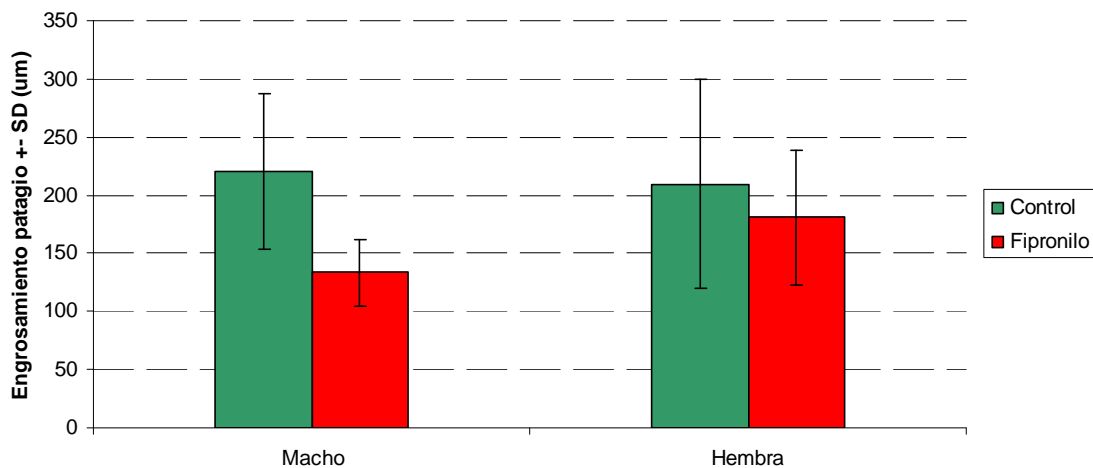


Figura 4: medida de la respuesta inmune celular, en términos de inflamación del patagio 24 h después de la inyección de PHA, en el ensayo correspondiente al fipronilo. Se muestran los resultados por sexo para reseñan las diferencias entre ambos en esta respuesta particular.

8) Hormonas sexuales

En el momento de redacción del presente informe todavía no se dispone de resultados definitivos referentes a este apartado para los experimentos 2 y 3.

Tabla 4: Tasas de fecundación y eclosión por tratamiento en el experimento 2. Los asteriscos indican valores significativamente diferentes a los de los controles.

	Control	Imid.	Maneb		Piretrinas		Tiram	
		Baja	Baja	Alta	Baja	Alta	Baja	Alta
Tasa fecundación (%)	62.5	82.85	58.14	70.59	86.96*	60.54	34.28*	66.66
Tasa eclosión (%)	81.39	82.46	83.3	86.67	85.71	79.12	83.33	95
N huevos	136	70	43	85	46	147	35	60

9) Reproducción

Sin considerar los efectos letales producidos por la concentración alta de imidacloprid, ninguno de los plaguicidas analizados durante el **experimento 2** influyó en el porcentaje de hembras que pusieron huevos, el cual se movió entre el 30 y el 70%.

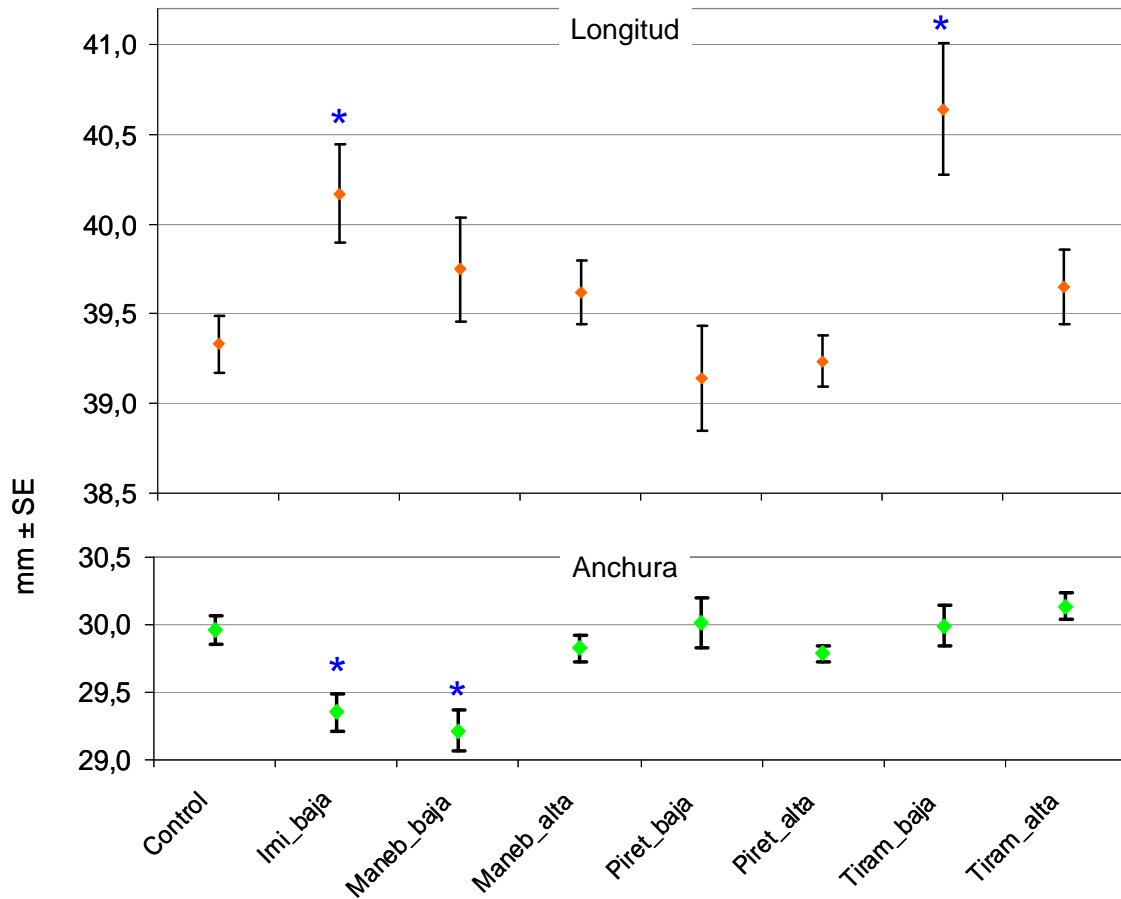


Figura 5: longitud y anchura media de los huevos puestos por perdices expuestas a diferentes fitosanitarios durante el experimento 2. Los asteriscos indican valores significativamente diferentes a lo registrado entre los controles.

Las dosis bajas de tiram y piretrinas redujeron la tasa de fecundación de huevos, algo que no sucedió entre las perdices alimentadas con las dosis altas de estos plaguicidas (Tabla 4). La tasa de eclosión de huevos, por su parte, no se vio afectada por ninguno de los fitosanitarios analizados.

El tamaño de los huevos puestos por hembras expuestas también se vio reducido, apareciendo nuevamente los efectos en las dosis bajas de determinados plaguicidas; en concreto, los huevos puestos por hembras expuestas a las dosis bajas de imidacloprid y

maneb mostraron menor anchura que los controles (Fig. 5). La masa de los huevos no se vio afectada por la exposición de las perdices adultas a ninguno de los fitosanitarios analizados.

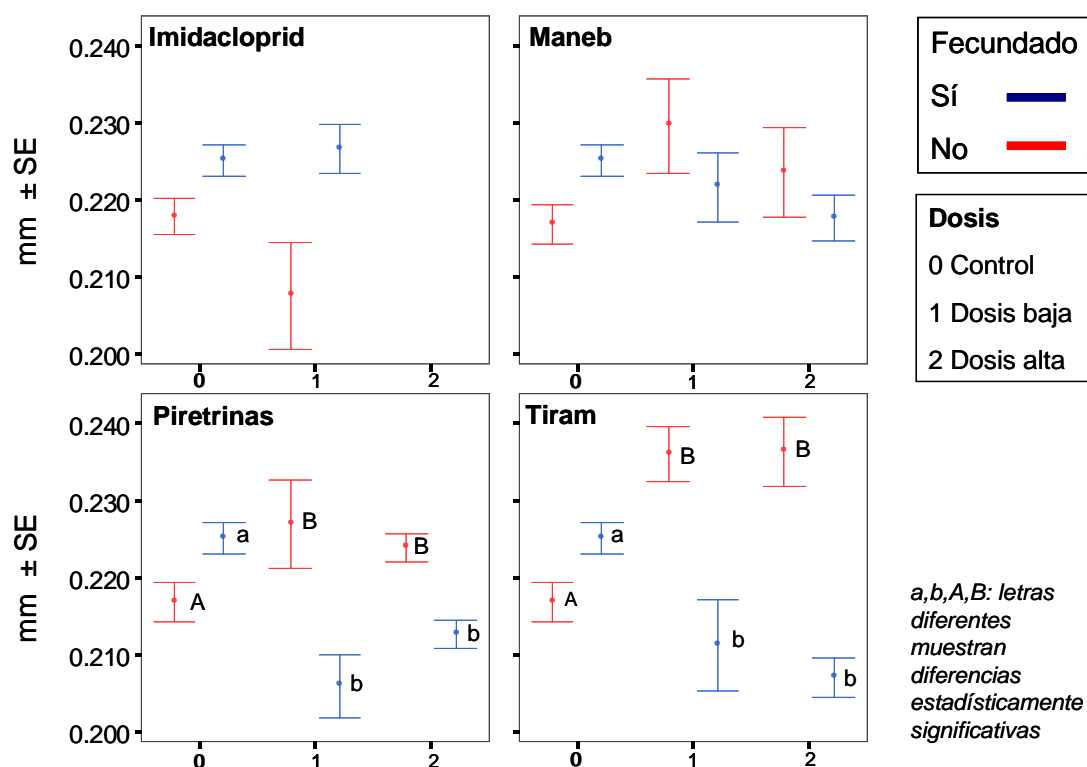


Figura 6: grosor medio de cáscara por tratamiento en huevos puestos por perdices expuestas a diferentes fitosanitarios durante el experimento 2. Se muestran los resultados por separado de huevos fecundados y no fecundados.

Del mismo modo, el grosor de cáscara, tradicionalmente utilizado como indicador de la exposición a compuestos organoclorados, resultó ser significativamente inferior en los huevos puestos por hembras expuestas a cualquiera de las concentraciones de tiram y piretrinas; sin embargo, llama la atención que dicho efecto únicamente se apreció al considerar los huevos fecundados, mientras que el efecto de los fitosanitarios sobre el grosor de cáscara de los huevos no fecundados fue totalmente opuesto, mostrando éstos cáscaras más gruesas que los controles (Fig. 6). Salvo en el caso específico de la dosis alta de piretrinas, el porcentaje de reducción del grosor de cáscara respecto de los controles fue

superior al 5%; estudios previos llevados a cabo con compuestos organoclorados (especialmente DDT, DDE y DDD) (e.g. Pyle *et al.* 1990) han puesto de manifiesto que estas reducciones en el grosor de cáscara estarían relacionadas con una disminución de las probabilidades de eclosión, ya que aumentan el riesgo de rotura de los huevos y consiguiente muerte del embrión.

Las probabilidades de supervivencia de los pollos durante sus primeros días de no se vieron afectadas de manera significativa por la exposición de sus padres a las semillas tratadas con plaguicidas, aunque en el caso concreto de los huevos procedentes de perdices expuestas a la dosis baja de tiram sí se apreció una tendencia hacia la reducción de dichas probabilidades, registrándose una supervivencia ligeramente superior al 30% por la ligeramente inferior al 70% observada entre los controles (Fig. 7).

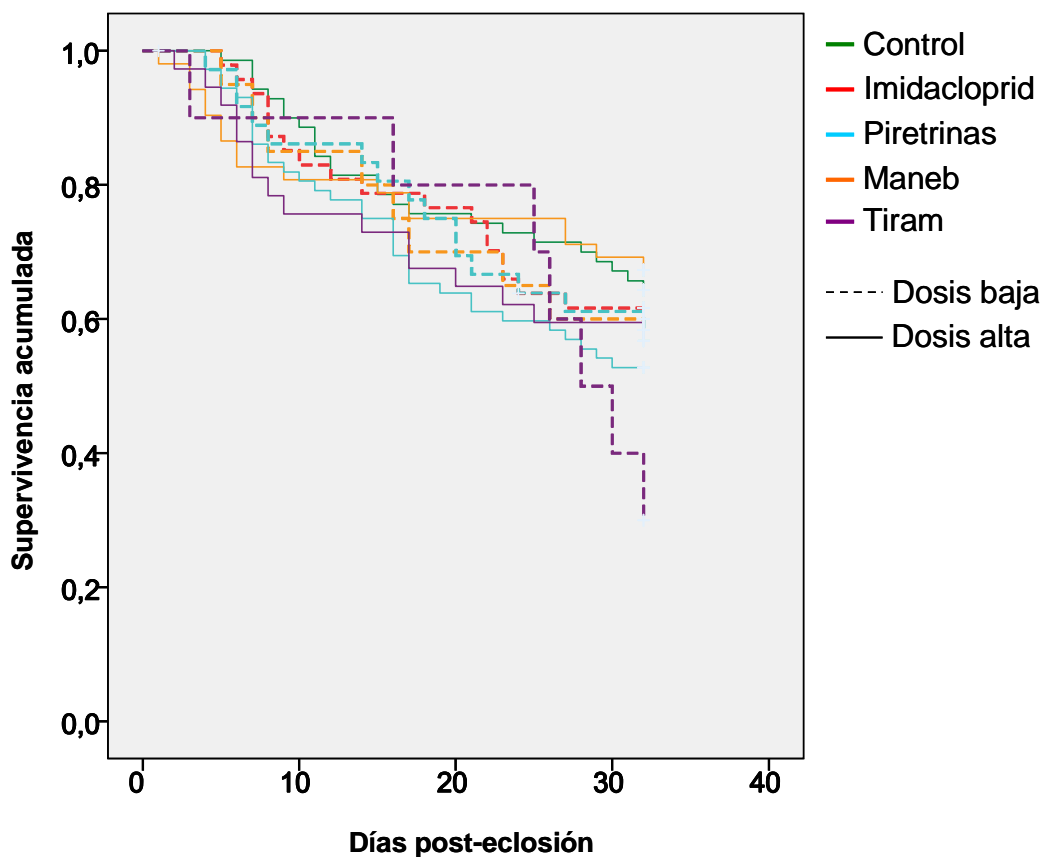


Figura 7: curvas de supervivencia por tratamiento durante los primeros 32 días de vida de los pollos nacidos de perdices expuestas a diferentes fitosanitarios durante el experimento 2.

La supervivencia de los pollos a corto o medio plazo podría verse comprometida por una reducción en la capacidad de desarrollar una respuesta inmune ante una infección; en este sentido, los pollos correspondientes a la dosis baja de imidacloprid (la única de este plaguicida que se analizó debido a la mortalidad de los adultos expuestos a la dosis alta) y a la dosis alta de tiram mostraron una menor intensidad de su respuesta inmune celular a los 8 días de su eclosión (Fig. 8). La concentración baja de tiram que produjo la mayor tasa de mortalidad entre los pollos no pudo ser testada en lo que se refiere a respuesta inmune debido al bajo tamaño de muestra. La respuesta inmune humoral de los pollos no se vio afectada por ninguno de los tratamientos sobre los que se pudo cuantificar.

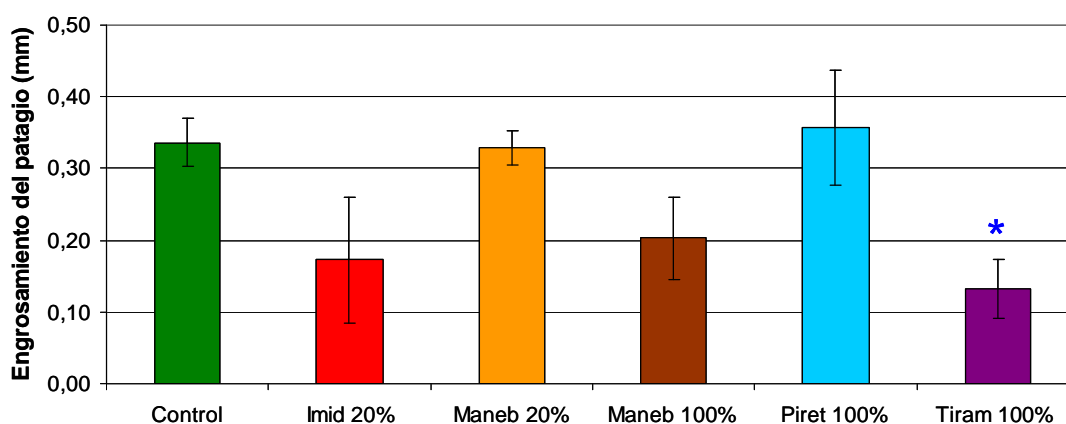


Figura 8: medida de la respuesta inmune celular, en términos de inflamación del patagio 24 h después de la inyección de PHA, en pollos nacidos perdices expuestas a diferentes fitosanitarios durante el experimento 2. En algunos tratamientos no se realizó esta prueba por no tener un tamaño de muestra suficiente. Los asteriscos indican valores significativamente diferentes a lo registrado entre los controles.

10) Consumo de semillas tratadas

En los ensayos realizados con los tres fungicidas no encontramos ninguna diferencia entre tratamientos en la ingesta diaria de trigo por perdiz, la cual varió entre los 23,9 y los 27,1 g dependiendo del tratamiento. Sin embargo, en el ensayo con fipronilo, el cual conviene recordar que se llevó a cabo utilizando simiente de maíz y mezclando las tratadas con las no tratadas, se observó una reducción significativa en la ingesta de semillas por parte

de aquellas perdices a las que se les suministró la mezcla (ingesta diaria por individuo = $9,7 \pm 5,7$ g) en comparación con los controles (ingesta diaria por individuo = $32,1 \pm 11,8$ g). Además, entre las perdices expuestas al fipronilo, el porcentaje promedio de semilla tratada ingerida fue del 15,9%, cuando en la mezcla suministrada dicho porcentaje era del 20%; esto indicaría una cierta capacidad de selección por parte de las perdices de las semillas no tratadas respecto de las tratadas con fipronilo. Sin embargo, un análisis más detallado de estos datos muestra una realidad diferente; una de las 13 parejas expuestas mostró una reducción evidente en el consumo de semillas, registrándose un consumo medio diario por individuo inferior a un gramo de maíz (lo que, en esencia, se puede considerar anorexia estricta); entre las pocas semillas consumidas por esa pareja se contabilizó un 79% de semilla tratada, si bien en términos absolutos estamos hablando de una cantidad muy pequeña. Si esa pareja se elimina del cómputo global de consumo de semilla tratada, el porcentaje medio baja hasta el 10.1%, claramente inferior al 20% proporcionado originalmente. De este modo, existe una clara tendencia hacia el rechazo de la semilla tratada con fipronilo que se manifiesta, por una parte, en una selección activa de la semilla sin tratar, y por otra, en una reducción significativa de la ingesta diaria de semillas.

CONCLUSIÓN

A) *Insecticidas*

Imidacloprid

Se trata de un insecticida que, administrado en las dosis recomendadas para el tratamiento de semillas, pone en riesgo la supervivencia de los individuos. En los casos en los que existen individuos supervivientes, éstos muestran síntomas de anorexia. También el éxito reproductor de las perdices se ve afectado por el imidacloprid, que en concentraciones claramente por debajo de las recomendadas para su aplicación sobre semillas reduce el tamaño de los huevos y la funcionalidad de la respuesta inmune en los pollos aunque éstos no entren en contacto con el insecticida.

Los resultados que indican la elevada toxicidad del imidacloprid sobre las perdices coinciden con datos de otros autores que señalan a este insecticida como uno de los fitosanitarios principales envueltos en la intoxicación de perdices en el campo (Bro *et al.*, 2004, 2010).

Piretrinas

A concentraciones por debajo de las recomendadas, la administración de simiente de trigo tratada con piretrinas naturales redujo la tasa de fecundación y el grosor de cáscara de los huevos, dos variables que pueden tener un efecto negativo sobre la viabilidad de las poblaciones. En cualquier caso, la magnitud de los efectos negativos de este insecticida no es demasiado elevada, lo que lo convierte en una alternativa al uso del imidacloprid para la protección de las semillas ante determinados tipos de insectos.

Fipronilo

Los pocos datos que se poseen hasta el momento relativos a este insecticida muestran un efecto tóxico superior al de las piretrinas, afectando a la condición corporal y a la respuesta

inmune de las perdices expuestas. Sin embargo, la administración de semilla de maíz tratada con fipronilo origina una clara reducción en la ingesta de alimento cuyo origen podría estar en un rechazo de la semilla tratada y/o en un efecto producido por la intoxicación por el insecticida. Profundizar en el origen del conducta observada en cuanto al consumo de semilla tratada con fipronilo es fundamental para dilucidar los riesgos reales que el uso de este insecticida para el blindaje de semillas podría tener en las poblaciones de perdices.

B) Fungicidas

Tiram

Con los datos que se dispone hasta el momento, el tiram sólo afecta a las perdices adultas a concentraciones superiores a las recomendadas para el tratamiento de semillas, según los resultados del experimento 1 (ver informe primer año). A niveles por debajo de los recomendados, sin embargo, la exposición a tiram presenta una serie de efectos sobre el éxito reproductor (reducción de la tasa de fecundación y del grosor de la cáscara) que en última instancia parecen apuntar a una reducción de las probabilidades de supervivencia de los pollos. No obstante, según lo detectado en ensayos de consumo de semillas realizados durante el primer año del proyecto, el tiram parece presentar un efecto repelente, lo que supone que los individuos podrían estar rechazando intencionadamente el grano tratado con este fungicida, y ser ésta y no su toxicidad directa la causa de los efectos observados sobre el proceso reproductor.

Maneb

De todas las variables analizadas hasta la fecha, el maneb sólo produjo efectos negativos sobre la condición corporal de las perdices alimentadas con semillas tratadas con este producto, así como sobre el tamaño de los huevos puestos por dichas perdices. Aparentemente y considerando que todavía hay una serie de respuestas pendientes de análisis, parece una alternativa más segura que el tiram para el tratamiento de semillas de



Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

cereal con fungicidas, si bien parece presentar un efecto algo más severo que el difenoconazol (ver informe primer año). En cualquier caso, habría que considerar el riesgo de exposición al maneb cuando éste se aplica sobre semillas de cereal, ya que en caso de no ser rechazado por parte de las perdices, su menor severidad con respecto del tiram podría verse compensada con un mayor riesgo de exposición.

Flutriafol, Oxicloruro de Cobre y Tebuconazol

El análisis de los efectos de estos tres compuestos es todavía muy preliminar y se limita a unas pocas respuestas medidas en individuos adultos; en este momento no es posible extraer conclusiones al respecto. No obstante, resulta llamativo que ninguno de estos fungicidas fue rechazado por las perdices, que consumieron cantidades similares de trigo tratado que lo que hicieron los animales alimentados con trigo sin tratar.

DIFUSIÓN DE RESULTADOS Y DIRECCIONES FUTURAS

El proyecto continúa desarrollándose con normalidad. A lo largo de la primavera y verano de 2012 se analizarán los efectos de los cuatro compuestos testados en el experimento 3 sobre la reproducción y sobre aquellos parámetros fisiológicos que hayan resultado más significativos en los análisis realizados durante el primer año de proyecto. Del mismo modo, se están completando en el momento de redacción de este informe los análisis para testar las respuestas fisiológicas pendientes correspondientes al experimento 2.

Los resultados de los experimentos 1 y 2 se han presentado en cuatro congresos internacionales a lo largo del periodo que comprende este informe:

- Society of Environmental Contamination and Toxicology (SETAC) Europe 21st Annual Meeting (Milán, Italia). 2 comunicaciones:
 - o *Effects of ingestion of fungicide- and insecticide-coated seeds on red-legged partridge (Alectoris rufa) health.*
 - o *Reproductive effects of ingestion of fungicide- and insecticide-coated seeds on red-legged partridge.*
- XXXth International Union of Game Biologists (IUGB) Congress and Perdix XIII (Barcelona). 2 comunicaciones:
 - o *Effects of ingestion of pesticide-coated seeds on red-legged partridge survival and reproduction.*
 - o *Biochemical and immunological effects of coated seed ingestion on red-legged partridge (Alectoris rufa).*
- 4th SETAC Europe Special Science Symposium: The environmental risk assessment of biocides. Regulatory challenges and scientific solutions (Bruselas, Bélgica). 1 comunicación:
 - o *Risks of coated seeds for farmland birds. The case of the red-legged partridge.*



Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

- Hunting for sustainability: ecology, economics and society (Ciudad Real). 1 comunicación:
 - o *Effects of pesticide-coated seeds on farmland birds. The case of the red-legged partridge.*

Igualmente, en el momento de redacción del presente informe, se está ultimando un manuscrito con los resultados del experimento 1 para someter para su publicación en una revista científica. Los datos de dicho experimento fueron presentados por Ana López-Antia en Diciembre de 2011 como trabajo para la obtención del título de Máster dentro del Máster Universitario en Investigación Básica y Aplicada en Recursos Cinegéticos, desarrollado por el IREC.

FEDENCA, mayo 2012

REFERENCIAS

- Blanco Aguiar, J., Virgós, E., Villafuerte, R. 2003. Perdiz Roja *Alectoris rufa*. En Martí, R., Del Moral, J.C. (Eds), Atlas de las Aves Reproductoras de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza - Sociedad Española de Ornitología, Madrid, pp. 212-213.
- Brickle, N.W., Harper, D.G., Aebischer, N.J., Cockayne, S.H., 2000. Effects of agricultural intensification on the breeding success of corn buntings *Miliaria calandra*. Journal of Applied Ecology 37, 742-755.
- Bro, E., Ternier, M.-E., Soyeux, D., Berny, P., Reitz, F., Gaillet, J.-R. 2004. Faut-il s'inquiéter de l'état sanitaire des perdrix grises sauvages ? Faune Sauvage 261, 6-17.
- Bro, E., Decors, A., Millot, F., Soyeux, D., Moinet, M., Berny, P., Mastain, O. 2010. Intoxications des perdrix grises en nature. Nouveau bilan de la surveillance «SAGIR». Faune Sauvage 289, 26-32.
- EBCC, 2009. Trends of Common Birds in Europe, 2009 Update. European Bird Census Council. <http://www.ebcc.info/>
- Greenwood, J.J.D., 2003. The monitoring of British breeding birds: a success story for conservation science? Science of the Total Environment 310, 221-230.
- López-Antia, A., Ortiz-Santaliestra, M.E., Mateo, R., 2011. Impacto de la intensificación agrícola y el uso de agroquímicos en la conservación de la fauna silvestre. En: Meco, R., Lacasta, C., Moreno, M.M. (Coord.). Manejo ecológico de secanos. MARM, Madrid, pp. 357-376.
- Mañosa S., Mateo R., Freixa C., Guitart R., 2003. Persistent organochlorine contaminants in eggs of northern goshawk and Eurasian buzzard from northeastern Spain: temporal trends related to changes in the diet. Environmental Pollution 122, 351-359.
- Mateo, R., Carrillo, J., Guitart, R., 2000. p,p'-DDE residues in eggs of European kestrel *Falco tinnunculus* from Tenerife (Canary Islands, Spain). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 65, 780-785.
- Pyle, P., Sydeman, W.J., McLaren, E., 1990. Organochlorine concentrations, eggshell thickness, and hatchability in seabirds off central California. Waterbirds 22, 376-381.
- Rands, M.R.W, 1985. Pesticide use on cereals and the survival of grey partridge chicks: A field experiment. Journal of Applied Ecology 22, 49-54.
- Pérez y Pérez, F., 1981. La Perdiz Roja Española. Ed. Científico-médica, Barcelona, 504 p.
- Salamolard, M., Moreau, C., 1999. Habitat selection by little bustard *Tetrax tetrax* in a cultivated area of France. Bird Study 46, 25-33.
- SEO/BirdLife, 2010. Estado de Conservación de las Aves en España en 2010. SEO/BirdLife, Madrid.
- Sheldon, R., Bolton, M., Gillings, S., Wilson, A., 2004. Conservation management of lapwing *Vanellus vanellus* on lowland arable farmland in the UK. Ibis 146, 41-49.



Identificación y cuantificación de los efectos de los plaguicidas agrícolas en la perdiz roja en España

Sotherton, N.W., 1998. Land use changes and the decline of farmland wildlife: an appraisal of the set-aside approach. *Biological Conservation* 83, 259-268.

Stanley, P.I., Bunyan, P.J., 1979. Hazards to wintering geese and other wildlife from the use of dieldrin, chlorfenvinphos and carbophenothion as wheat seed treatments. *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences* 205, 31-45.