# MÁSTER EN BIOLOGÍA DE LA CONSERVACIÓN Curso 2011/12



# El estrés oxidativo en el gorrión común (*Passer domesticus*) como indicador ambiental en un gradiente urbano del centro de la Península Ibérica

Amparo Herrera Dueñas (bio\_ahd@hotmail.com) Gestión ecosistémica

Tutores: María Teresa Antonio (Dpto. Fisiología Animal II) & José I. Aguirre (Dpto. Zoología y A.F.)



Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Complutense de Madrid

#### RESUMEN

Los ecosistemas urbanos albergan la existencia de una comunidad biológica cuyo peso en el cómputo de la biodiversidad global es cada vez mayor debido al crecimiento de las áreas urbanas. El futuro de estas especies asociadas a la ciudad va a estar condicionado por el modelo de crecimiento que esta adopte; pero, para poder tomar parte en los sistemas de gestión del medio urbano en pro de la conservación de sus especies se hace necesario conocer cómo afecta la urbanización de un territorio a las especies implicadas. En el presente estudio la especie seleccionada para evaluar los efectos de la urbanización del territorio ha sido el gorrión común (*Passer domesticus*); ave antropófila cuya población ha experimentado un acusado declive en el medio urbano al que tan eficazmente se había adaptado.

Para determinar qué efectos producen las variables ambientales en esta especie se ha evaluado el nivel de estrés oxidativo presente en la sangre de individuos pertenecientes a 5 localidades dispuestas a lo largo de un gradiente de urbanización. Los resultados muestran como los individuos pertenecientes a una de las localidades de carácter más urbano presentan anemia, malnutrición y un funcionamiento deficitario de sus sistemas de defensa antioxidante. El deterioro del estado de salud de las aves parece estar relacionado con el exceso de contaminación atmosférica y la falta de alimentos necesarios para el mantenimiento de una dieta equilibrada.

La mejora de la calidad del aire y la adopción de planes de urbanismo que incluyan una mayor densidad de espacios verdes de buena calidad pensados para el uso no sólo de los ciudadanos, sino también para cubrir las necesidades de otras especies urbanas, mejoraría de forma sustancial la viabilidad de las poblaciones de gorriones y otras muchas especies en entornos urbanos.

<u>Palabras clave:</u> gorrión común (*Passer domesticus*); declive poblacional; ecología urbana; estrés oxidativo; antioxidantes.

# INTRODUCCIÓN

A pesar de su accesibilidad y singulares características, son muchos los aspectos aún desconocidos acerca del funcionamiento de los ecosistemas urbanos. Esta ausencia de información les convierte en un patrimonio tradicionalmente infravalorado que tiende a ser ignorado por los programas de conservación y gestión, a pesar de poseer un importante papel en el campo de la Biología de Conservación por su labor como soporte de una comunidad ecológica cuyo peso, dada la creciente tendencia exponencial de los núcleos urbanos, tendrá cada vez mayor influencia en el declive global de la biodiversidad.

# Entorno urbano y biodiversidad

La historia de la civilización humana es la historia de las ciudades que ha ido construyendo; desde Uruk, la más antigua conocida datada de finales del 4000 AC hasta las megalópolis del siglo XX, el ser humano ha ido transformando el territorio sobre el que se asentaba adaptándolo a sus propias necesidades. Durante el último siglo, la urbanización del planeta creció asociada al crecimiento de la población mundial, de forma que a comienzos del año 2000 se estimaba que el 50% de la población mundial (unos 3000 millones de personas) vivía en zonas urbanas. En sólo una década, el número de individuos que habita el planeta ha superado ya la barrera de los 7000 millones y la tendencia continua al alza; además el estilo de vida hacía el que tiende esta población indica que dentro de unos 30 años el 70% de la misma vivirá en ciudades por lo que la superficie de territorio ocupada por los núcleos urbanos continuará en expansión para satisfacer la creciente demanda (Ozcáriz y Prats, 2009).

Estas zonas de influencia antrópica funcionan como un ecosistema, con sus propios ciclos de materia y energía, y una flora y fauna asociadas a los nichos que ofrecen. Estos hábitats se caracterizan por su elevada vulnerabilidad; debida a que las perturbaciones introducidas por el hombre en general suelen ser más rápidas que las respuestas inducidas por los procesos naturales, dejando a los ecosistemas urbanos en el límite de lo biológicamente viable, quedando siempre mucho más expuestos a las alteraciones que sus conespecíficos naturales (Herrera, 2008).

Las especies residentes en zonas urbanas han de hacer frente a nuevos retos para sobrevivir cada día: la expansión del núcleo urbano y la creación de nuevas vías de comunicación para abastecer a las ciudades crea barreras que provocan el aislamiento de las poblaciones; la continua presencia del hombre, el tráfico o el exceso de iluminación son una fuente de continuo estrés para los animales (Herrera, 2008); la falta de espacios verdes o zonas no pavimentadas dificulta la búsqueda de alimento, la escasa, homogénea y excesivamente ordenada vegetación no proporciona refugio ante la presencia de depredadores ni tampoco resulta útil en época de cría; y la instalación de tendidos eléctricos y antenas radioeléctricas también podría estar ocasionando alteraciones en los ciclos biológicos o en los parámetros reproductores de algunas especies (MacGregor-Fors y Schondube, 2011). En este sentido, mención aparte merece la contaminación atmosférica; la presencia continua en el aire de las ciudades de gases como el monóxido de carbono (CO), los óxidos de azufre (SOx) y nitrógeno (NOx), ozono troposférico (O<sub>3</sub>), derivados de hidrocarburos (COV), metales y demás productos indeseables derivados de la combustión incompleta de los carburantes se encuentra directamente relacionada con el agravamiento de muchas patologías animales y su vigilancia y control constituye una de las principales preocupaciones para los expertos en salud ambiental (Aránguez et al., 1999).

Con la intención de proteger estos ecosistemas, surge en Copenhague en la década de los 40, la idea de crear un plan de desarrollo urbanístico que incluya entre sus objetivos la conservación de la biodiversidad asociada a la ciudad; en la actualidad son muchas las ciudades europeas que están desarrollando estos planes, uno de los mejor valorados en la actualidad es el denominado "anillo verde" de Vitoria-Gasteiz surgido como un plan de restauración ambiental del entorno urbano y cuyos efectos sobre la conservación de las especies de la zona han sido muy positivos (Herrera, 2008). En general, los objetivos que deben cumplir los estudios centrados en la fauna urbana, deben cubrir el conocimiento de las dinámicas poblacionales de las especies urbanitas para proteger y frenar la pérdida de biodiversidad; además pueden servir como bioindicadores de parámetros ambientales que pueden tener su incidencia en las poblaciones urbanas con las que comparten entorno (Ozcáriz y Prats, 2009).

Uno de los grupos taxonómicos más útiles para la exploración de los efectos que el fenómeno de urbanización ejerce sobre la biodiversidad es el de las aves (Bonier,

2012). Se trata de un grupo ampliamente estudiado y con numerosas especies adaptadas al medio urbano, muchas de las cuales presentan amplias distribuciones (Stagoll *et al.*, 2010). Una de las especies que mejor cumple con estos requisitos es el gorrión común (*Passer domesticus*), un ave accesible y emblemática de las ciudades cuyo estudio tiene además un punto de interés añadido, ya que sus poblaciones urbanas están disminuyendo progresivamente sin que aún se haya identificado la causa de este declive.

# Situación actual del gorrión común

El gorrión común es el ave que presenta la mayor distribución geográfica. Su origen se sitúa en Oriente Medio, donde se refugió durante la última glaciación, y desde allí se extendió hacia el este hasta la India y hacia el oeste hasta la costa atlántica; además fue introducido en el continente americano donde ha conseguido establecer numerosas colonias reproductoras (Murgui, 2011).

Se cree que su amplia distribución ha podido verse facilitada por el estrecho contacto que mantiene con el hombre; es posible que su relación con el hombre comenzase hace unos 10000 años coincidiendo con la aparición de la agricultura en el Creciente Fértil. Desde entonces, esta especie ha estado ligada a los ambientes antrópicos, ya sean rurales o urbanos, mientras que su presencia en los hábitats forestales es nula o muy escasa (Murgui, 2011).

A pesar de esta larga y provechosa convivencia entre las dos especies, en los años 60 investigadores británicos alertaron acerca del descenso poblacional registrado en las zonas rurales de Gran Bretaña. El hecho fue atribuido a la perturbación debida a la intensificación de la agricultura, y lo cierto es que en la actualidad las poblaciones rurales se encuentran estabilizadas; sin embargo, la tendencia negativa de las urbanas no sólo no se revierte sino que parece haber ido acentuándose a lo largo de los años hasta el punto de que en Londres se estima que su población se ha reducido en más del 80% por lo que ha sido incorporada a su Lista Roja de especies amenazadas (De Laet y Summers-Smith, 2007). Esta preocupante situación no es exclusiva de Gran Bretaña, un gran número de ciudades europeas como Dublín, Berlín, Hamburgo, Praga, Moscú o

San Petersburgo ha registrado en los últimos años una disminución similar de sus poblaciones (Shaw *et al.*, 2008).

En España, el programa SACRE de la Sociedad Española de Ornitología para el seguimiento de las tendencias poblacionales de las aves en primavera, ha registrado en los últimos años una disminución media de un 0.6 % anual. Esta tendencia poblacional a la baja descrita a nivel nacional parece quedar confirmada por estudios realizados a nivel local (SEO/Birdlife, 2010). Según los datos recogidos por Aguirre y col. (pendiente publicación), durante los últimos 15 años en una estación de anillamiento científico de esfuerzo constante ubicada en el Parque del Oeste (Madrid), el número de individuos capturados ha disminuido en torno al 95%. En su trabajo, se exploran las distintas causas implicadas en el declive poblacional a través del estudio hematológico y bioquímico de las aves y la determinación de su índice de productividad, concluyendo que el estado de salud general de las aves urbanitas parece ser peor que el de aquellas que habitan zonas más rurales.

Muchas son las hipótesis formadas en los últimos años acerca de qué podría estar induciendo este cambio en la tendencia poblacional; la restauración de edificios así como el diseño de los de nueva construcción podría estar privándoles de lugares para la nidificación (Shaw et al., 2008); la tendencia a pavimentar los parques y jardines dificulta la formación de zonas despejadas donde tomar baños de polvo para desparasitarse; la pérdida de espacios verdes así como de diversidad de especies vegetales reduce sus fuentes de alimento (Murgui, 2009); el tratamiento químico de las semillas para evitar su putrefacción podría resultar tóxico para ellos; por último, los cables de alta tensión, las ondas electromagnéticas emitidas por las compañías telefónicas o la contaminación ambiental podrían estar deteriorando gravemente su salud (Dandapat et al., 2010).

Esta lista de posibles causas responsables la disminución de las poblaciones urbanas de gorrión común es extensa y diversa, sin embargo es posible encontrar un mecanismo de acción común a todas ellas basado en el deterioro progresivo del estado de salud de los individuos. Por tanto, el análisis de este podría resultar muy útil no sólo para identificar las causas responsables sino que además permitiría monitorizar cuál es el estado de la población y usarla como bioindicador del medio en el que habita.

#### El estrés oxidativo

La verificación del estado de salud de los individuos a través del estudio de su estrés oxidativo ofrece gran cantidad de información de forma rápida y económica. Una de sus grandes ventajas con respecto a otros enfoques más tradicionales es que puede ser analizado en todos los organismos que presentan una respiración aerobia por lo resulta muy útil para el seguimiento, por ejemplo, de la evolución de toda la red trófica (Konigsberg *et al.*, 2008).

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio bioquímico ocasionado por la excesiva producción de radicales libres o por un fallo en los sistemas de control de los mismos (Cordova *et al.*, 2009). Los radicales libres son un subproducto de la respiración aerobia, los más frecuentes son las Especies Reactivas de Oxígeno (EROs). Se trata de moléculas o fragmentos de moléculas altamente inestables debido a que poseen electrones desapareados en su orbital externo, lo cual les confiere un carácter oxidante (Valko *et al.*, 2007).

Para evitar la oxidación de las biomoléculas adyacentes, inmediatamente después de su formación los radicales libres son interceptados y neutralizados por los sistemas de defensa antioxidante del organismo; sin embargo, en algunas ocasiones puede producirse la liberación de estos radicales. A esta situación se puede llegar tanto por un incremento en la producción de radicales como por una fallo en los mecanismos de defensa involucrados; de cualquier forma, esto conduce al desequilibrio del balance oxidante/antioxidante, una situación patológica que puede llegar a ocasionar graves daños en las estructuras celulares subyacentes (Konigsberg et al., 2008). Entre causas más frecuentes del desequilibrio del balance oxidante/antioxidante se encuentran: la presencia de tóxicos en el ambiente, ya que el mecanismo de acción de muchos de ellos estimula la producción de radicales libres; una dieta deficitaria en precursores, adyuvantes o cofactores de los sistemas de defensa antioxidante como vitaminas y minerales (Koivula y Eeva, 2010); situaciones de estrés crónico (Costantini et al., 2011) o una excesiva respuesta por parte del sistema inmunitario (Costantini y Moller, 2009); siendo todas ellas situaciones a las que se enfrenta el gorrión común urbano.

# Objetivos del estudio

El objetivo de este estudio es determinar el estado de salud de 5 poblaciones de gorrión común dispuestas a lo largo de un gradiente de urbanización a través del estudio de su condición física general y el grado de estrés oxidativo que presentan. Se tratará además de identificar qué factores pueden estar afectando esos niveles con el fin de extraer conclusiones encaminadas a la conservación y gestión de esta especie.

# **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### Caracterización de la zona de estudio

El estudio se ha desarrollado en la zona centro de la península ibérica, tomando la ciudad de Madrid como punto central de las perturbaciones ocasionadas por la urbanización del territorio. Los cinco puntos de muestreo fueron seleccionados tratando de recoger la máxima variabilidad ambiental presente en la comarca: Madrid (40°26′30.04" N; 3°41′24.54"); Fuenlabrada (40°17′01.94" N; 3°48′01.18"); Illescas (40°07′27.00" N; 3°50′57.14" O); El Escorial (40°35′06.30" N; 4°07′46.26"); Nuevo Baztán (40°21′55.91" N; 3°14′35.46" O).

Según algunos trabajos acerca de la influencia de los núcleos urbanos sobre esta especie, como el de Liker (Liker *et al.*, 2008), la distancia al núcleo urbano principal no resulta útil para establecer un gradiente de influencia del entorno urbano o gradiente de urbanización siendo más fiable la elaboración de un índice de urbanización considerando variables características de la urbe presentes en el territorio a evaluar que mayor influencia pudieran ejercer sobre la especie en estudio. En este caso, las variables consideradas han sido: la densidad poblacional (cuanto mayor sea la presencia humana en la zona más perturbaciones se producirán en el medio), el porcentaje de suelo urbanizado (el cual va en detrimento de las zonas verdes de las que obtienen alimento) y la contaminación atmosférica (PM 2,5; PM 10; monóxido de carbono; dióxido de nitrógeno; dióxido de azufre; ozono troposférico); los datos utilizados proceden del Instituto Nacional de Estadística y la Red de Vigilancia de la Calidad del Aire de la Comunidad de Madrid. Mediante el análisis estadístico de estas variables se obtuvo el

índice de urbanización buscado (**tabla 1**) y según el cual las localidades muestreadas quedaban en el siguiente orden (de menor a mayor carácter urbano): Nuevo Baztan, El Escorial, Illescas, Fuenlabrada y Madrid.

#### Obtención de las muestras

El muestreo se realizó entre noviembre de 2011 y enero de 2012, momento en el cual los individuos nacidos esa primavera ya han alcanzado caracteres de adulto. Para la captura de los animales en cada uno de los puntos de muestreo se obtuvieron los permisos necesario para la colocación de redes japonesas ,el anillamiento y la toma de muestras biológicas de los ejemplares capturados (tabla 2).

Localidad	Índice de urbanización	
	(PC1)	
Madrid	4,458	
Fuenlabrada	-0,323	
Illescas	-1,026	
El Escorial	-1,060	
Nuevo Baztán	-2,048	

**Tabla 1.** Grado de urbanización de las localidades de muestreo tras el análisis de componentes principales utilizando las variables de caracterización del hábitat.

Las aves fueron individualizadas mediante una anilla metálica con código alfanumérico. Se identificaron como pertenecientes a la especie *Passer domesticus*, fueron sexadas, datadas atendiento al grado de pneumatización craneal o grado de osificación del cráneo y se determinó su condición física examinando la cantidad de músculo y grasa acumulada por el ave, asignandole un valor según el esquema propuesto por el Manual del anillador (Pinilla, 2000).

De cada una de las aves se extrajo una muestra de sangre de aproximadamente 0,2 ml mediante venopunción de la vena yugular empleando agujas desechables (25G) y jeringuillas de plástico heparinizadas. Todas las muestras se mantuvieron en hielo hasta su llegada al laboratorio.

Localidad	Número de ejemplares			
Localiuau	Total	Machos	Hembras	
Madrid	16	10	6	
Fuenlabrada	20	13	7	
Illescas	22	9	13	
El Escorial	17	7	10	
Nuevo Baztán	20	11	9	

**Tabla 2.** Número de ejemplares analizados en cada localidad.

En fresco se determinó la cantidad de hemoglobina mediante el método de la cianometahemoglobina y el porcentaje de hematocrito por microcentrifugación; a continuación, la sangre fue centrifugada para su separación en fracción celular y plasma; las cuales fueron conservadas a -80°C hasta su utilización.

#### Determinación del estado nutricional

Mediante el estudio de la composición de la sangre es posible obtener de forma rápida y fiable información muy útil acerca del estado nutricional de un individuo (Gavet y Wakeley, 1986). Algunos de los parámetros bioquímicos más utilizados para este fin son la cuantificación de albúmina y colesterol en plasma.

La albúmina es una de las proteínas plasmáticas más importantes implicada en la nutrición del individuo. Para su cuantificación se utilizó un kit de Spinreact®, basado en la reacción del bromocresol (Rodkey, 1956).

El colesterol es una sustancia de naturaleza grasa, presente en todas las células del organismo; su cuantificación se realizó mediante el kit de Spinreact® basado en la reacción de Trinder (Meiattini *et al.*, 1978).

# Determinación del balance oxidante/antioxidante

Para la evaluación del daño oxidativo de los eritrocitos se determinó el grado de afectación de lípidos y proteínas.

#### Peroxidación lipídica

Una de las moléculas más sensibles al daño oxidativo son los lípidos, los cuales sufren una peroxidación ante la presencia de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO). El grado de peróxidación lipídica puede ser cuantificado indirectamente a través de las Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). El protocolo se basa en la medida del malondialdehido (MDA), producto secundario de la reacción, con un máximo de absorbancia a 532 nm (Ohkawa *et al.*, 1979).

#### Oxidación de proteínas

Las proteínas también son susceptibles de oxidarse. Durante dicha oxidación, las cadenas laterales de los aminoácidos son atacadas por especies reactivas formando grupos carbonilos. Reznick y Parker (1994), y su grupo describieron una técnica para detectar estos grupos a través de la reacción con la 2,4-dinitrofenilhidrazina, que es capaz de formar difenilhidrazonas con un máximo de absorbancia a 505 nm.

En cuanto a los mecanismos de defensa antioxidante basados en actividades enzimáticas, fueron evaluadas la catalasa y la superóxido dismutasa.

#### Catalasa

La catalasa (EC 1,11.1.6) es, junto con la glutatión peroxidasa, una de las encargadas de eliminar el peróxido de hidrógeno. Esta hemoproteína, formada por 4 subunidades y localizada en prácticamente todas las células animales, es una de las principales líneas de defensa del sistema antioxidante. Para la determinación de su actividad se siguió el método de Cohen y col. (1970), basado en la capacidad de esta enzima para descomponer el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua.

#### Superóxido dismutasa

La superóxido dismutasa o SOD (EC 1.15.1.1) es otra de las enzimas clave del sistema antioxidante endógeno, encargada de catalizar la dismutación del radical superóxido a peróxido de hidrógeno. Para cuantificar su actividad se siguió el método desarrollado por Marklund y Marklund (1974). Esta técnica se basa en que el pirogalol se oxida rápidamente en pH alcalino, formando un cromógeno que absorbe luz a 420 nm, siendo los radicales superóxido formados capaces de acelerar esta reacción; por ello, la velocidad de formación del compuesto disminuye considerablemente en presencia de SOD.

Por último, para evaluar el efecto conjunto de todos los mecanismos de defensa antioxidante y el efecto sinérgico que se produce, se determinó la capacidad antioxidante total del eritrocito.

#### Capacidad antioxidante total

Este parámetro mide la capacidad antioxidante total, es decir, la suma de los componentes tanto enzimáticos como los no. Para evaluar este parámetro se utilizó el kit creado por el Nanjing Jiancheng Bioengineering Institut. Dicho kit se basa en la capacidad reductora de estas enzimas y moléculas anteriormente citadas, capacidad que permite transformar el Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup>; este Fe <sup>2+</sup> puede combinarse con fenantreno, dando un compuesto coloreado cuyo máximo de absorción se encuentra a 520 nm.

#### Análisis estadístico de los datos

Con respecto a la caracterización de la zona de estudio, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con las variables seleccionadas (densidad poblacional, porcentaje de superficie urbana y contaminación atmosférica). El índice de urbanización adoptado es el componente principal del análisis (PC 1), el cual explicaba un 50,69% de la variabilidad encontrada.

En cuanto a las variables de estudio, tras comprobar la distribución normal de los datos mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff, se realizó un Modelo General Linear (GLM) utilizando la "localidad" como factor fijo a fin de determinar si existían o no diferencias significativas (p<0,05) entre las variables de estudio (cantidad de hemoglobina, porcentaje de hematocrito, albúmina, colesterol, peroxilación lipídica, carboxilación de proteínas, actividad catalasa y superóxido dismutasa y capacidad antioxidante total) en función de este. El índice de condición corporal fue calculado utilizando los residuos de una regresión de la longitud del tarso frente al peso (Liker *et al.*, 2008), e incluido junto con el sexo como covariables del modelo. En aquellos casos en los que el modelo detecto diferencias significativas entre las localidades analizadas, se realizó un análisis post-hoc para establecer entre cuales se daban dichas diferencias.

Todos los datos se analizaron utilizando el programa STATISTICA<sup>©</sup>.

#### **RESULTADOS**

Los resultados obtenidos se muestran en la **tabla 3**. Los análisis realizados mostraron que las diferencias significativas encontradas en las variables de estudio se debían al efecto de la localidad, no al del tamaño o sexo de los animales; salvo en los parámetros hematológicos donde si se detectó un efecto significativo del sexo, además del producido por la localidad.

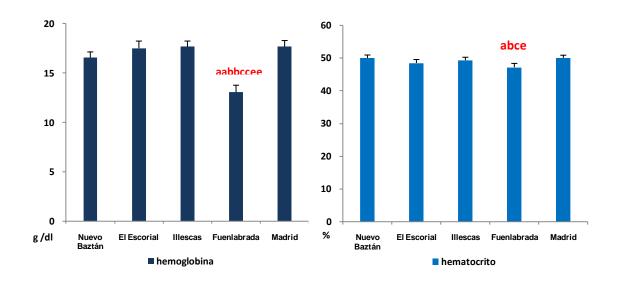
Variables		Localidades						
variables	Nuevo Baztán	El Escorial	Illescas	Fuenlabrada	Madrid			
Cantidad músculo	1,08 ± 0,29	1 ± 0,31	1,07 ± 0,52	1,1 ± 0,45	0,97 ± 0,34			
Grasa acumulada	1 ± 0,00	1,35 ± 0,61	1 ± 0,31	1,25 ± 0,64	1,06 ± 0,68			
Hemoglobina**	16,57 ± 2,55	17,50 ± 2,92	17,66 ± 2,70	13,05 ± 3,22	17,67 ± 2,47			
Hematocrito*	49,95 ± 4,15	48,44 ± 4,27	49,27 ± 4,32	47,15 ± 5,21	50 ± 3,27			
Albúmina	1,23 ± 0,03	1,23 ± 0,02	1,11 ± 0,02	1,21 ± 0,02	1,13 ± 0,02			
Colesterol**	165,07 ± 42,01	158,65 ± 44,87	162,26 ± 33,36	133,28 ± 25,46	176,59 ± 37,10			
Oxidación lípidos	108,3 ± 23,88	112,1 ± 22,75	113,16 ± 15,94	100,87 ± 15,87	105,79 ± 19,62			
Oxidación proteínas**	21,77 ± 4,50	23,05 ± 6,88	23,82 ± 5,13	24,9 ± 2,04	23,12 ± 5,21			
Actividad catalasa	2,05 ± 1,52	1,36 ± 1,04	$0.8 \pm 0.53$	1,95 ± 2,18	1,46 ± 1,12			
Actividad SOD*	4,05 ± 2,30	4,98 ± 4,51	5,42 ± 1,40	3,38 ± 1,22	3,05 ± 1,36			
Capacidad antioxidante total*	38,45 ± 10,03	49,15 ± 14,60	37,42 ± 9,00	37,36 ± 13,19	37,67 ± 7,40			

**Tabla 3.** Cuadro resumen de los resultados obtenidos. Los datos se muestran media ± desviación estándar. La cantidad de músculo se expresa en escala de 0 a 3; la grasa acumulada en escala de 0 a 8; la hemoglobina en g/dl sangre; el hematocrito en porcentaje; albúmina en g/dl plasma; colesterol en mg/dl plasma; la oxidación de lípidos en nmoles MDA/ml sangre y la de proteínas en μM; la actividad catalasa y SOD en U/ml sangre; y la capacidad antioxidante total en U/ml plasma.

<sup>\* \*\*</sup> Aquellas variables que el ANOVA mostraron diferencias significativas ( $p \le 0.05$ \*) o muy significativas ( $p \le 0.01$ \*\*) entre localidades.

En cuanto a la condición corporal, no se han hallado diferencias significativas en la cantidad de músculo y grasa acumuladas entre los individuos de las distintas localidades.

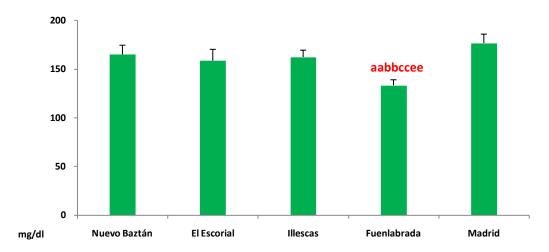
En los parámetros hematológicos, señalar que se observó un efecto del factor sexo sobre el porcentaje de hematocrito, el cual era significativamente mayor en machos que en hembras. La localidad de Fuenlabrada presentó niveles significativamente más bajos tanto en la cantidad de hemoglobina (F=9,32;  $p\le0,01$ ) como en el porcentaje de hematocrito (F=2,58;  $p\le0,05$ ) (**figura 1**), en comparación con el resto de localidades analizadas, especialmente con respecto a Madrid.



**Figura 1.** Cantidad de hemoglobina y porcentaje de hematocrito. Resultados representados como media ± error estándar.

Diferencias significativas "a" o muy significativas "aa" encontradas frente a la localidad de Nuevo Baztán; "b", "bb" vs. El Escorial; "c", "cc" vs. Illescas; "d", "dd" vs. Fuenlabrada; "e", "ee" vs. Madrid.

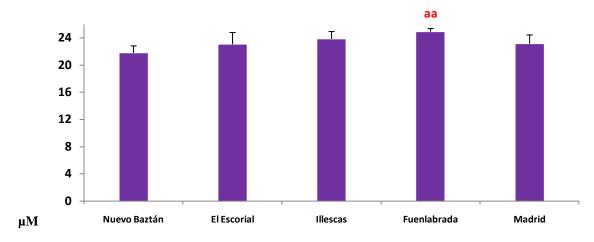
Una situación similar encontramos en lo que al estado nutricional se refiere; los niveles de albúmina no difieren significativamente entre las localidad, sin embargo, volvemos a encontrar una reducción significativa (F=3,78; p≤0,01) de los niveles de colesterol (**figura 2**) en la localidad de Fuenlabrada en comparación con el resto y especialmente, con Madrid.



**Figura 2.** Cantidad de colesterol en plasma. Resultados representados como media ± error estándar.

Diferencias muy significativas "aa" encontradas frente a la localidad de Nuevo Baztán; "bb" vs. El Escorial; "cc" vs. Illescas; "dd" vs. Fuenlabrada; "ee" vs. Madrid.

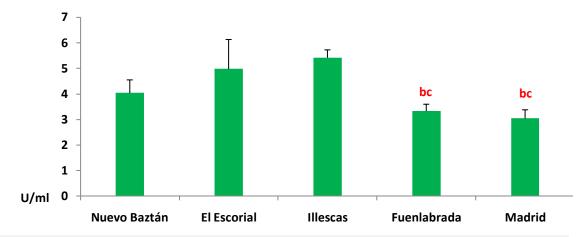
Con respecto al daño oxidativo, señalar que la oxidación de lípidos no presentó diferencias significativas entre las localidades; sin embargo el daño a proteínas aparece elevado significativamente (F=4,38;  $p\le0,01$ ) en la localidad de Fuenlabrada con respecto a la localidad de Nuevo Baztán (**figura 3**).



**Figura 3.** Medida del grado de oxidación de proteínas. Resultados representados como media ± error estándar.

Diferencias muy significativas "aa" encontradas frente a la localidad de Nuevo Baztán; "bb" vs. El Escorial; "cc" vs. Illescas; "dd" vs. Fuenlabrada; "ee" vs. Madrid.

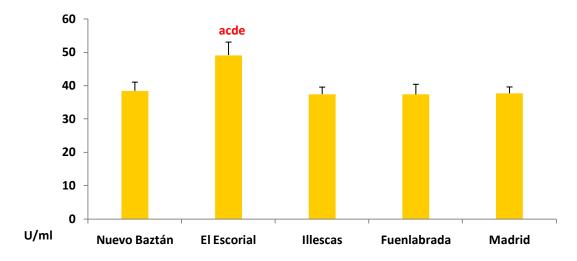
La defensa antioxidante enzimática, en lo que a la actividad SOD se refiere, mostró valores significativamente más bajos (F=2,94; p≤0,05) en las localidades de Fuenlabrada y Madrid en comparación con El Escorial y Nuevo Baztán; sin embargo la actividad catalasa no difirió significativamente entre localidades (**figura 4**).



**Figura 4.** Medida de la actividad enzimática de la SOD. Resultados representados como media ± error estándar.

Diferencias significativas "a" encontradas frente a la localidad de Nuevo Baztán; "b" vs. El Escorial; "c" vs. Illescas; "d" vs. Fuenlabrada; "e" vs. Madrid.

Por último, la capacidad antioxidante total parece ser significativamente mejor (F=3,26; p≤0,05) en la localidad de El Escorial en contraposición al resto de localidades analizadas (**figura 5**).



**Figura 5.** Medida de la capacidad antioxidante total. Resultados representados como media ± error estándar.

Diferencias significativas "a" encontradas frente a la localidad de Nuevo Baztán; "b" vs. El Escorial; "c" vs. Illescas; "d" vs. Fuenlabrada; "e" vs. Madrid.

# **DISCUSIÓN**

De las cinco poblaciones de gorrión analizadas, la situación de los pertenecientes al municipio de Fuenlabrada es la que presente una peor condición física. En esta localidad, los individuos presentaron cierto grado de anemia y malnutrición; además de un elevado grado de oxidación de sus proteínas y el deficitario funcionamiento de alguno de sus sistemas de defensa antioxidante. La elevada contaminación atmosférica de la zona y la escasez de alimento son posiblemente los principales responsables de esta situación.

La anemia presente en aves urbanas ha sido ya descrita por otros autores; en Madrid, el grupo de Aguirre (pendiente publicación) ya la detectó en los gorriones urbanos analizados en 2009. Un grupo del departamento de Ciencias Ambientales de la Universidad de Milán realizó entre los años 2003 y 2005 un estudio para analizar cómo afectaba la contaminación ambiental a las poblaciones de paloma (*Columba livia*), más concretamente, al funcionamiento y estabilidad de sus eritrocitos con el fin de utilizar a esta especie como centinela de la contaminación atmosférica. En sus resultados encontraron que se establecía una relación inversa entre el nivel de monóxido de carbono del aire y la cantidad de hemoglobina. Esto se debe a que la interacción entre el monóxido de carbono y la hemoglobina produce la formación de carboxihemoglobina, un compuesto ineficaz para el transporte de oxígeno a los tejidos (Sicolo *et al.*, 2009). En Fuenlabrada, los niveles de monóxido de carbono registrados por la Red de Calidad del Aire de la Comunidad de Madrid son elevados, de hecho, es la que presenta los valores más altos de entre las cinco localidades estudiadas.

Las aves de Fuenlabrada también muestran un elevado daño oxidativo en sus proteínas; este hecho puede ser resultado del contacto con elevados niveles de ozono troposférico (O<sub>3</sub>) (Konigsberg *et al.*, 2008). Es este un gas altamente oxidante, un frecuente contaminante atmosférico secundario producido por la reacción entre los óxidos de nitrógeno y los hidrocarburos, especialmente en condiciones de elevada radiación UV y altas temperaturas (Aránguez *et al.*, 1999). Su contacto con los seres vivos produce, entre otras cosas, la oxidación de los grupos sulfhidrilo (-SH) de las proteínas así como a algunos aminoácidos como la tirosina, metionina o triptófano,

llegando a inutilizar a las proteínas ricas en cualquiera de esos elementos (Konigsberg *et al.*, 2008).

Sin embargo, en este caso Fuenlabrada no presenta valores especialmente altos de este gas en su atmósfera, el cual tiende a desplazarse a grandes distancias de los núcleos urbanos siendo en el medio rural donde se registran los valores más altos (Aránguez *et al.*, 1999). De hecho, dentro de las localidades estudiadas, Fuenlabrada presenta valores mucho más bajos que Nuevo Baztán, por tanto la explicación a este hecho debemos buscarla no tanto en el mecanismo de acción del daño oxidativo sino en el funcionamiento de los sistemas de defensa antioxidante. Este tipo de situaciones justifican que en un estudio de estrés oxidativo se analicen siempre los dos aspectos antagónicos: oxidante/antioxidante (Costantini y Verhulst, 2009).

En este contexto los resultados obtenidos cobran sentido ya que es cierto que la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) medida en las aves del municipio de Fuenlabrada es muy baja en comparación con la de otras localidades. Las enzimas responsables de la defensa antioxidante de las células como la catalasa, la SOD o la glutatión peroxidasa son sistemas inducibles, es decir, su actividad se ve incrementada en aquellos momentos en los que más necesarios van a resultar, en este caso ante la aparición masiva de radicales libres, para neutralizarlos antes de que afecten a las estructuras biológicas generando daños irreparables en el medio celular (Blokhina et al., 2003); sin embargo en este caso la actividad de la SOD no se ha incrementado en respuesta al daño producido a las proteínas. Esto puede deberse a un déficit en la dieta de los minerales que la enzima utiliza como cofactores, fundamentalmente cobre, zinc, manganeso, hierro y magnesio (Cordova et al., 2009). De hecho, algunos autores consideran que el acceso a alimentos ricos en antioxidantes podría justificar el que unas poblaciones de gorriones presenten una mejor capacidad de respuesta antioxidante que otros (Koivula y Eeva, 2010). En el caso de Fuenlabrada la idea de que sus gorriones poseen una dieta deficitaria en elementos esenciales se ve apoyada por el hecho de que sus niveles de colesterol resultaron ser bajos en comparación con los del resto de localidades.

Los gorriones son aves omnívoras y muy oportunistas. Su dieta se compone principalmente de alimentos de origen vegetal: grano, semillas, bayas, frutos,

inflorescencias..., pero también consumen invertebrados o alimentos proporcionados por el hombre, sobre todo pan. Las proporciones entre unos u otros van variando a lo largo del año en función de la disponibilidad y de las propias necesidades del ave, así en época de cría aumenta el consumo de insectos para satisfacer las necesidades de los pollos (Murgui, 2011). Los artrópodos constituyen el aporte de colesterol a la dieta puesto que es el único alimento de origen animal que consumen; por lo que la hipocolesterolemia registrada en Fuenlabrada podría deberse a una ingesta deficitaria de estos cuyas poblaciones en invierno (época en la que se capturaron los gorriones) son de entrada mucho más bajas que en otras épocas del año. Las vitaminas y minerales que también parecen estar ingiriendo en cantidades insuficientes se concentran más en alimentos como el grano, las bayas, hormigas...; por lo que una dieta equilibrada implica el consumo de gran variedad de alimentos diferentes (Moller *et al.*, 2010).

El área de campeo de un gorrión suele ser muy reducida por lo que la búsqueda de alimento se realiza en áreas cercanas, en grupo y, con preferencia, cerca de vegetación o estructuras que les faciliten cobijo en caso de peligro; las aves que habitan en núcleos urbanos pequeños o en la periferia de las ciudades pueden utilizar las áreas rurales cercanas como comedero, sin embargo las que residen en el centro de grandes núcleos poblacionales deben conformarse con el alimento de los parques y jardines cercanos (Bernis, 1989).

En las últimas décadas, los núcleos poblacionales cercanos a Madrid como Fuenlabrada han sufrido un crecimiento desmesurado dejando a las poblaciones de gorriones cada vez más distanciadas de la zona rural. Este hecho por sí sólo no tendría por qué representar un serio problema para estas aves si la cantidad de espacios verdes y la calidad de los mismos fuese suficientemente buena como para proporcionarles la variedad de alimentos necesario para el correcto funcionamiento de sus sistemas de defensa antioxidante. Sin embargo la gestión de las zonas periféricas suele seguir patrones de ordenación poco considerados con la fauna urbana (Herrera, 2008).

Con respecto a la cantidad de zonas verdes, la especulación de terrenos destinados al uso recreativo para la construcción de viviendas ha derivado en una ampliación de los núcleos urbanos caracterizada por la escasa o nula presencia de estos, quedando reducidos a pequeñas parcelas de césped situadas en franjas entre los edificios

y la calzada, con poca cobertura arbórea o arbustiva. El problema suele verse incrementado con: la ampliación de polígonos industriales lo que contribuye a aumentar la contaminación atmosférica de la zona; y la construcción de grandes carreteras de circunvalación cuya presencia actúa como barrera física entre el medio urbano y el rural, provocando el aislamiento y la fragmentación de sus poblaciones (Pisanty *et al.*, 2009).

En lo que a la calidad de estos espacios verdes se refiere, su estado no compensa su escasez. El diseño de los parques y jardines basado en la creación de espacios limpios y diáfanos resulta demasiado ordenado para albergar biodiversidad ya que esta requiere la existencia de estructuras más complejas; la sola presencia de una pequeña zona de matorral denso en el corazón de los parques resultaría muy útil como refugio o dormidero (MacGregor-Fors y Schondube, 2011) o la permanencia de hojarasca en el suelo, que constituye el hábitat idóneo para un sinfín de artrópodos y permite a los gorriones alimentarse de insectos, semillas y otros restos vegetales inmersos en ella (Herrera, 2008). Otro problema es la tendencia a utilizar en el diseño de los jardines sólo unas pocas especies, normalmente exóticas, distribuidas de forma organizada, lo cual supone no sólo una reducción drástica de la diversidad vegetal sino también de la entomofauna asociada a las especies autóctonas y, por tanto, del alimento del gorrión (Wilkinson, 2006). La entomofauna de las ciudades se enfrenta además a otros problemas ya que a la extendida costumbre de fumigar parques y jardines se añade la presencia en los carburantes sin plomo de MTBE, compuesto utilizado para reducir el riesgo de explosión pero que durante la combustión produce una sustancia de carácter insecticida que permanece en la atmósfera (Dandapat et al., 2010).

Por tanto, aunque el gorrión sea una especie particularmente resistente al envenenamiento por insecticidas y otros productos (Dhananjayan *et al.*, 2011; Wilkinson, 2006), de forma indirecta si va a sufrir las consecuencias de su presencia en el medio ya que la eliminación de sus presas supone un duro contratiempo para el mantenimiento de sus poblaciones, especialmente durante la época de cría. Además el hecho de que no le afecten demasiado los tóxicos no implica que no los esté acumulando en sus tejidos, lo que supone la entrada a la red trófica de compuestos nocivos para sus depredadores (Chandler *et al.*, 2004).

Los gorriones ocupan un lugar intermedio en las redes tróficas urbanas, la desaparición de sus poblaciones contribuye al desequilibrio de un sistema de por sí muy inestable. Las poblaciones de especies con las que interaccionan como pueden ser los insectos de los que se alimentan, se verían afectadas y una vez comienza a alterarse el funcionamiento del sistema las consecuencias son siempre algo impredecibles (Orros *et al.*, 2012).

La pérdida de uno de los nudos de una red conlleva siempre el riesgo de que a este siga otro y otro más, por tanto, la pérdida de cualquier especie debería ser motivo de preocupación y análisis. En el caso del gorrión, la causa principal del declive de su población en áreas urbanas parece encontrarse estrechamente relacionada con el desarrollo de planes urbanísticos poco respetuosos con su biología. La solución a este problema pasaría por educar y concienciar a la sociedad urbana para que exija planes de urbanismo que contribuyan a enriquecer y conservar la biodiversidad de las zonas urbanas.

#### CONCLUSIONES

- Los ecosistemas urbanos juegan un papel muy importante en la conservación de la biodiversidad debido a la tendencia de crecimiento exponencial de las ciudades y sus estructuras asociadas.
- La biodiversidad urbana constituye un patrimonio de gran valor que no solo fomenta el carácter singular de la ciudad sino que además constituye un indicador de buena salud de la misma.
- La pérdida de las poblaciones urbanas de gorrión común implica la pérdida de un importante patrimonio genético forjado a lo largo de siglos de convivencia con el ser humano.
- El uso del estrés oxidativo como indicador ambiental para analizar el efecto de la urbanización sobre el gorrión común constituye una herramienta completa y muy sensible a las alteraciones producidas por agentes externos.

- La escasez de vegetación, la homogeneización de la misma así como el uso excesivo de insecticidas podrían estar dificultando gravemente la correcta alimentación de los gorriones urbanos.
- Una planificación urbanística que considerase las necesidades de la fauna urbana aportaría a la ciudad grandes beneficios tanto ambientales como socioeconómicos.

# **Agradecimientos**

Al programa de Financiación de Grupos de Investigación Santander-UCM 2011 (GR35/10-A-910577) por la financiación parcial de este proyecto.

A la gente del Museo Nacional de Ciencias Naturales, Fuenlabrada, Illescas, El Escorial y Nuevo Baztán por la ayuda prestada a la hora de llevar a cabo los muestreos.

A los Departamentos del Bioquímica y Biología Molecular, Ecología, Microbiología y, especialmente, Fisiología Animal por ceder desinteresadamente equipos, mapas y materiales necesarios para la realización del trabajo.

A la gente del Departamento de Zoología y Antropología Física por su amabilidad y disponibilidad a la hora de solventar cualquier dificultad.

# **BIBLIOGRAFÍA**

Aguirre, J.I.; Banda, E. & Antonio, M.T. Living in the city: the case of house sparrow. Pendiente de publicación.

Aránguez, E.; Ordóñez, J.M.; Serrano, J.; Aragonés, N.; Fernández-Patier, R.; Gandarillas, A. & Galán, I. 1999. Contaminantes atmosféricos y su vigilancia. *Revista Española de Salud Pública* 73, 123-132.

Bernis, F. 1989. Los gorriones. Con especial referencia a su distribución y eto-ecología en las mesetas españolas. 114 páginas. Comunicaciones I.N.I.A., Serie Recursos naturales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.

Blokhina,O.; Virolainen, E.; Fagerstedt K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation Stress: a Review. *Annals of botany* 91, 179-194

Bonier, F. 2012. Hormones in the city: Encocrine ecology of urban birds. *Hormones and Behavior* 63, 763-772.

Chandler, R.B.; Strong, A.M. & Kaufman, C.C. 2004. Elevated lead levels in urban house sparrows: a threat to sharp-shinned hawks and merlins? *Journal of Raptor Research* 38, 62-68.

Cohen, G.; Dembiec, D. & Marcus, J. 1970. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analytic Biochemistry* 34, 30-38.

Constantini, D. & Møller, A.P. 2009. Does immune response cause oxidative stress in birds? A meta-analysis. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 153, 339-344.

Constantini, D. & Verhulst, S. 2009. Does high antioxidant capacity indicate low oxidative stress? *Functional Ecology* 23, 506-509.

Constantini, D.; Marasco, V. & Møller, A.P. 2011. A meta-analysis of glucocorticoids as modulators of oxidative stress in vertebrates. *Journal of Comparative Physiology B* 181, 447-456.

Córdova, A.; Ruiz, C.G.; Córdova, C.A.; Córdova, M.S.; Guerra, J.E.; Rodríguez, B.E. & Arancibia, K. 2009. Oxidative stress and antioxidants in the spermatic conservation. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 3, 01-38.

Dandapat, A.; Banerjee, D. & Chakraborty, D. 2010. The case of the Disappearing House Sparrow (*Passer domesticus indicus*). *Veterinary World* 3, 97-100.

De Laet, J. & Summers-Smith, J.D. 2007. The status of the urban house sparrow *Passer domesticus* in north-western Europe: a review. *Journal of Ornithology* 148, S275-S278.

Dhananjayan, V.; Muralidharan, S. & Ranapratap, S. 2011. Organochlorine pesticide residues in eggs and tissues of House Sparrow, *Passer domesticus*, from Tamil Nadu, India. *Bulletion of Environmental Contamination and Toxicology* 87, 684-688.

Gavett, A.P. & Wakeley, J.S. 1986. Blood constituents and their relation to diet in urban and rural house sparrows. *The Condor* 88, 279-284.

Herrera, P.M. 2008. Infraestructuras de soporte de la biodiversidad: planificando el ecosistema urbano. *Ciudades* 11, 167-188.

Koivula, M.J. & Eeva, T. 2010. Metal-related oxidative stress in birds. *Environmental Pollutin* 158, 2359-2370.

Konigsberg, M. (coord.) 2008. Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. Manual Moderno, México.

Liker, A.; Papp, Z.; Bókony, V. & Lendvai, Á.Z. 2008. Lean birds in the city: body size and condition of house sparrows along the urbanization gradient. *Journal of Animal Ecology* 77, 789-795.

MacGregor-Fors, I. & Schondube, J.E. 2011. Gray vs. green urbanization: relative importance of urban features for urban bird communities. *Basic and Applied Ecology*, 12, 372-381.

Marklund, S. & Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pirogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry* 47, 469-474.

Meiattini, F.; Prencipe, L.; Bardelli, F.; Giannini, G. & Tarli, P. 1978. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone chromogenic system used in the enzymic determination of serum cholesterol. *Clinical Chemistry* 24, 2161-5.

Møller, A.P.; Erritzøe, J. & Karadas, F. 2010. Levels of antioxidants in rural and urban birds and their consequences. *Oecologia* 163, 35-45.

Murgui, E. 2009. Seasonal patterns of habitat selection of the House Sparrow *Passer domesticus* in the urban landscape of Valencia (Spain). *Journal of Ornithology* 150, 85-94.

Murgui, E. 2011. Gorrión común – *Passer domesticus*. En: Salvador, A. & Morales, M.B. (Eds.): *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <a href="http://www.vertebradosibericos.org/">http://www.vertebradosibericos.org/</a>

Ohkawa, H.; Nobuko, O.Y. & Kunio, Y. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 95, 351-358.

Orros, M.E. & Fellowes, M.D.E. 2012. Supplementary feeding of wild birds indirectly affects the local abundance of arthropod prey. *Basic and Applied Ecology* 13, 286-293.

Ozcáriz, J. & Prats, F. 2009. Cambio global España 2020/50. Programa Ciudades. Hacia un pacto de las ciudades españolas ante el cambio global. 218 páginas. Centro Complutense de Estudios e Información Medioambiental, CCEIM y Fundación Conama, Madrid.

Pinilla, J. (Coord.). 2000. *Manual para el anillamiento científico de aves*. Seo/Birdlife y DGCN-MIMAM, Madrid, España.

Pisanty, I., M. Mazari, E. Ezcurra 2009. El reto de la conservación de la biodiversidad en zonas urbanas y periurbanas. En *Capital natural de México*, vol. II: *Estado de conservación y tendencias de cambio*. Conabio, México, pp. 719-759.

Reznick, A.Z. & Packer, L., 1994. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods in Enzymology* 233, 357-363.

Rodkey, F.L. 1956. Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. *Clinical Chemistry* 11, 478-87.

SEO/BirdLife (2010). Estado de Conservación de las Aves en España 2010. SEO/BirdLife, Madrid.

Shaw, L.; Chamberlain; D. & Evans, M. 2008. The House Sparrow *Passer domesticus* in urban areas: reviewing a possible link between post-decline distribution and human socioeconomic status. *Journal of Ornithology*, 149: 293-299.

Sicolo, M.; Tringali, M.; Orsi, F. & Santagostino, A. 2009. Porphyrin pattern and methemoglobin levels in *Columba livia* applied to assess toxicological risk by air pollution in urban areas. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 57, 732-740.

Stagoll, K.; Manning, A.D.; Knight, E.; Fischer, J. & Lindenmayer, D.B. 2010. *Landscape and Urban Planning*, 98, 13-25.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.D.; Mazur, M. & Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39, 44-84.

Wilkinson, N. 2006. Factors influencing the small-scale distribution of House Sparrows *Passer domesticus* in a suburban environment. *Bird Study* 53, 39-46.