

DESARROLLO DE TÉCNICAS DE BIOPSIA DE CETÁCEOS PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN MARINA POR ORGANOCLORADOS

CONTEXTO

Los organoclorados son un grupo de compuestos sintéticos que han sido extensivamente utilizados con fines agrícolas (el DDT, el lindane, el dieldrin, y muchos otros) y en la realización de diversos procesos industriales (los bifenilos policlorados o PCBs y las dioxinas). A pesar de que las primeras moléculas fueron sintetizadas a principios del siglo XX, su producción y utilización no se generalizó hasta después de la segunda guerra mundial. Como consecuencia del amplio uso que a partir de entonces recibieron y, también, de su elevada estabilidad química y difícil degradación, estos compuestos pronto se convirtieron en uno de los grupos de contaminantes más ubicuos, persistentes y ampliamente distribuidos en el medio ambiente.

Esto es particularmente cierto en el medio marino, adonde estos compuestos son llevados por las aguas de escorrentía y el transporte atmosférico. Las grandes masas de agua oceánicas son de hecho en el sumidero final de este tipo de contaminación. Ello explica las elevadas concentraciones que los organoclorados, y de un modo muy notorio los DDTs y los PCBs, han alcanzado en el mar. La producción y uso de estos dos grupos de compuestos alcanzó un máximo en las décadas de 1960 y 1970s pero, a partir de entonces, la alarma producida al comprobar sus efectos tóxicos condujo a su prohibición en casi todos los países del mundo.

En los vertebrados, la exposición crónica a concentraciones ambientales deprime el sistema inmunitario, favoreciendo de este modo la dispersión de las enfermedades infecciosas y

exacerbando los efectos de éstas, altera la reproducción al dificultar la ovulación y elevar la tasa de mortalidad de los recién nacidos, produce lesiones en las glándulas suprarrenales y en el hígado, tiene efectos cancerígenos y teratogénicos, y produce alteraciones en el crecimiento del esqueleto y el desarrollo ontogénico. Sin embargo, el impacto de los organoclorados no es igual para todos los segmentos de la biodiversidad. Estos productos químicos son bioacumulativos y su concentración aumenta conforme van siendo traspasados a lo largo de la red trófica siguiendo un proceso comúnmente conocido como “biomagnificación”. Esto hace que los organismos más susceptibles a su impacto sean precisamente los predadores terminales situados al final de redes tróficas largas y complejas, como con frecuencia son las marinas. En esta delicada posición ecológica se hallan muchos mamíferos marinos como los delfines y los pinnípedos, organismos que, además de ser predadores terminales y estar expuestos a altos niveles de contaminación, se hallan sometidos a muchas otras presiones humanas.

A principios de la década de 1970 se demostraron por primera vez los efectos adversos de los organoclorados en una población de mamíferos marinos (las focas anilladas del mar Báltico) y, desde entonces, se han sucedido las evidencias de impactos adversos en muchas especies y áreas geográficas. En varias ocasiones estos impactos conllevaron un declive significativo de las poblaciones afectadas. En aguas mediterráneas españolas, donde los organoclorados son particularmente abundantes, tuvimos una buena muestra cuando en 1990-1992 los PCBs potenciaron el desarrollo de una epizootia de morbillivirus que afectó la población de delfín listado. La elevada exposición de los delfines a estos compuestos, que tienen un reconocido efecto inmunodepresor, exacerbó la virulencia de la infección produciendo millares de muertes. La población de delfines listados quedó reducida a un tercio de su abundancia anterior a la epizootia. Para muchos no fue una sorpresa. En los años ochenta, el Mediterráneo occidental y la costa californiana de los Estados Unidos eran

las dos regiones oceánicas del planeta más contaminadas por PCBs. La producción total de estos compuestos por parte de España, Francia e Italia se estima que fue de 300.000 toneladas entre 1954-1984 y, aunque la fracción de esta cantidad que fue empleada localmente no se conoce con exactitud –se estima en aproximadamente la mitad- las emisiones ambientales que se produjeron durante la fabricación fueron sin duda altísimas. Dado que la vida media de estos compuestos se estima en unos 75 años, el legado ambiental de esta contaminación se cree que se extenderá como mínimo hasta la segunda mitad del siglo XXI.

La lucha contra la contaminación por estos compuestos exige sistemas de monitoreo que sean fiables y eficientes. Típicamente, este monitoreo se realiza empleando organismos “indicadores” o “centinela” que permitan un muestreo amplio y continuado en el tiempo. En un principio, para esta finalidad se seleccionaron organismos costeros de amplia distribución y fácil accesibilidad, principalmente moluscos, crustáceos y algunas especies de peces de fondo, lo que permitió identificar a través de ellos los “puntos calientes” de contaminación que existían en las aguas costeras y, para zonas muy concretas, evaluar las tendencias temporales. Sin embargo, el monitoreo de las aguas oceánicas, que como ya se ha mencionado, son el destino final de los contaminantes organoclorados, resultaba imposible al no existir en ellas organismos de este tipo. En el Mediterráneo, por ejemplo, hasta los años ochenta el control de este tipo de contaminación se hacía únicamente mediante mejillones y algunas especies de peces costeros de fondo, lo que impedía limitaba la información a las aguas abrigadas de la costa. El empleo de organismos de hábitos oceánicos que integraran la contaminación presente en amplias masas de agua, como los cetáceos o los tiburones, fue investigado en diversas ocasiones. Sin embargo, el uso de estos indicadores no prosperó pues las únicas fuentes de muestras eran la pesca o la esporádica aparición de ejemplares varados en la costa, y ambas estaban plagadas de

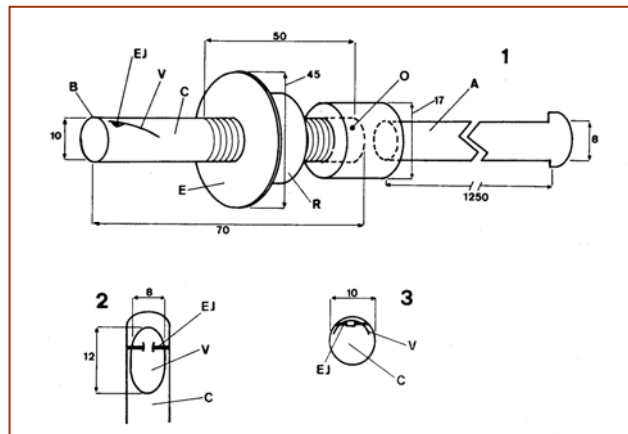
dificultades. La primera resultaba impredecible y rendía un número insuficiente de ejemplares; la segunda estaba compuesta por individuos que frecuentemente se hallaban en avanzado estado de descomposición y que, aunque no fuera así, al haber fallecido generalmente por causas naturales (enfermedades o envejecimiento) sus contenidos de contaminantes eran susceptibles de haber sido perturbados por alteraciones en la dieta, en la fisiología o en la capacidad de detoxificación.

En este contexto, y teniendo en cuenta la doble motivación hasta aquí expuesta (la preocupación por el impacto de los organoclorados en las poblaciones de los cetáceos predadores y la necesidad de desarrollar sistemas de medición de la contaminación en las masas de agua oceánicas), el candidato ha trabajado a lo largo de dos décadas en el desarrollo de técnicas que permitieran abordar el problema. Ello le llevó a desarrollar novedosas técnicas de biopsiado de delfines en libertad que luego han sido aplicadas en numerosos estudios realizados por él mismo en aguas mediterráneas y por otros investigadores en diversas poblaciones de cetáceos y áreas geográficas de todo el mundo.

DESCRIPCION

Hasta principios de la década de 1980 sólo se conocían dos intentos de desarrollo de técnicas de recolección de biopsias a distancia de vertebrados marinos: uno para obtener muestras de piel del monstruo del lago Ness (que por razones obvias nunca alcanzó la fase experimental) y otro, que tampoco progresó a largo plazo, realizado por Winn y colaboradores para obtener muestras del mismo tejido de ballenas jorobadas.

El candidato, abordando el reto desde una perspectiva técnica distinta, trabajó en el desarrollo de un dardo equipado con un cabezal biopsiador que permitiera obtener grasa hipodérmica de cetáceos vivos y en libertad sin requerir su captura o inmovilización. Después de probar varios prototipos en condiciones de laboratorio, se alcanzó un diseño que adoptaba la forma de troquel sacabocados equipado con un sistema automático de retención en forma de “válvula de mariposa”. Este primer dardo fue probado con éxito en diversas especies de cetáceos en libertad, obteniéndose una efectividad de un 60% de los disparos que acertaban el blanco. Al principio el dardo se propulsó con un fusil de gomas elásticas de los empleados en la pesca submarina convencional, pero posteriormente para su disparo se emplearon pistolas de aire comprimido -para distancias cortas- y ballestas -para distancias más largas-. Paralelamente, se realizaron estudios sobre el potencial impacto del uso de esta técnica en la seguridad y el bienestar de los ejemplares sometidos al biopsiado y se evaluó el uso de desinfectantes que impidieran una potencial infección de la lesión producida por la excisión del tejido.





Recolectando biopsias de delfines comunes

RESULTADOS

La presentación de los primeros resultados del dardo en la reunión anual de 1983 del Comité Científico de la Comisión Ballenera Internacional, y la publicación al año siguiente de un artículo científico donde se describía en detalle el dardo así como las características de su uso¹, despertaron de inmediato el interés entre los investigadores. Durante los años siguientes, y continuando hasta el presente, el candidato y su grupo de investigación han empleado el dardo en estudios de control de la contaminación en delfines de las aguas ibéricas. Los resultados de los estudios toxicológicos realizados incluyen una cuarentena de publicaciones científicas en revistas, todas ellas catalogadas en el SCI, y más de un centenar de comunicaciones en congresos y talleres internacionales. Entre estos estudios, dos destacan por su relevancia.

¹ Aguilar, A. & Nadal, J. (1984): Obtención de biopsias hipodérmicas de cetáceos en libertad. *Investigación Pesquera*, 48(1): 23-29. (Revista ahora publicada con el nombre de *Scientia Marina*).

El primero es el programa de monitoreo de la contaminación de los delfines listados mediterráneos, que en la actualidad lleva ya 23 años de recorrido, y que ha permitido entre otros establecer las tendencias que la contaminación por organoclorados sigue desde 1987 hasta el presente en aguas oceánicas del Mediterráneo². Dado que el delfín listado es de una especie oceánica, predadora terminal, con un rango medio de movimientos y una vida media de 15 años, es una excelente indicadora ecológica del ecosistema. Por este motivo, además del interés del estudio para la conservación de esta especie concreta, sus resultados son la evidencia más robusta de la evolución que sigue la contaminación en las grandes masas oceánicas del Mediterráneo occidental durante las últimas tres décadas.

Por otro lado, el uso del dardo permitió clarificar el papel que los PCBs jugaron en la epizootia de morbillivirus que durante 1990-92 diezmo la población de delfín listado mediterráneo³. La disponibilidad de muestras de tejidos de ejemplares supervivientes a la infección hizo posible establecer por primera vez una relación causa-efecto entre contaminantes y depresión del sistema inmunitario, así como su efecto a escala poblacional. Con cerca de 240 citas en publicaciones catalogadas, los dos trabajos que presentaron estos resultados han sido identificados por un reciente estudio llevado a cabo por el CSIC⁴ como uno de los estudios más influyentes de la investigación española en ciencias marinas.

Paralelamente, el dardo de biopsia fue adoptado por investigadores de otros grupos de investigación nacionales y extranjeros, convirtiéndose rápidamente en una técnica de uso generalizado no sólo en estudios toxicológicos, sino también de otros campos de

² Aguilar, A. and Borrell, A. (2005): DDT and PCB reduction in the western Mediterranean in 1987-2002, as shown by levels in dolphins. *Marine Environmental Research*, 59(4): 391-404.

³ Aguilar, A. & Borrell, A. (1994): Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990-1992 Mediterranean epizootic. *Science of the Total Environment*, 154(2-3): 237-247.

⁴ Duarte, C. M. (coord.), Acuña, J. L., Álvarez, X. A.; Blasco Font de Rubinat, D.; Bordon, M.; Costa, R.; Dañobeitia, J. J.; Hernández, S.; Losada, I. J.; Morales, B.; Nombela, M. A.; Ruiz, J. & Zanuy, S. 2006. *Las ciencias y tecnologías marinas en España*. CSIC, Madrid.

investigación, como por ejemplo los estudios genéticos. Su utilización en escenarios diversos llevó a la aparición de numerosas mejoras y adaptaciones, produciéndose finalmente el dardo que fue homologado por la Comisión Ballenera Internacional y que hoy es el estándar empleado en todo el mundo⁵.

El impacto de la técnica en la investigación de la contaminación y, en menor grado, de la biología de los cetáceos es difícil de medir dada la extensión de su uso. Sin embargo, una búsqueda de los términos “biopsies” + “dolphin”, “biopsies” + “porpoise” y “biopsies” + “whale” arroja un resultado total de 267 publicaciones en el *ISI Web of Knowledge* y de más de 1,200.000 impactos en Google. A pesar de que puede existir alguna duplicación en las entradas (un artículo que trate de ballenas y delfines a la vez) este alto índice de impacto claramente indica la trascendencia que la técnica ha tenido en los estudios de contaminación en este grupo de animales marinos.

SINERGIAS Y REDES

Como ya se ha mencionado en el apartado anterior, el uso del dardo de biopsia es hoy una técnica generalizada que emplean investigadores de todo el mundo. Sin embargo, las colaboraciones más notables a lo largo de los años han sido:

- Durante 1985 y 1986, el candidato realizó una estancia postdoctoral en el National Marine Fisheries Science Center de la Jolla (California), que depende de la National Oceanic and Atmospheric Administration norteamericano (el equivalente a nuestro Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). El dardo de biopsiado

⁵ Aguilar, A. & Borrell, A. (1994): Assessment of organochlorine pollutants in cetaceans by means of skin and hypodermic biopsies. En: "Nondestructive Biomarkers in Vertebrates", M. C. Fossi & C. Leonzio (eds). Lewis Publishers, Boca Raton (USA). pp: 245-267. ISBN: 0-87371-648-5.

despertó en este centro un gran interés y, después de realizar diversas pruebas e incorporar alguna modificación, fue adoptado como técnica habitual de estudio. Recientemente, la NOAA ha incluso publicado un manual de guía para el usuario⁶.

- La presentación del dardo en la reunión anual del Comité Científico de la Comisión Ballenera Internacional hizo que esta institución se interesara en la técnica y promoviera su uso. Ello condujo a pequeñas modificaciones en el dardo para adaptarlo a condiciones de muestreo o a especies que, por su comportamiento elusivo, resultaban difíciles de aproximar. Las dos principales modificaciones fueron la de Lambertsen (1987)⁷ y la de Larsen (1991)⁸, siendo esta última la que hoy emplea la organización de manera estándar en sus estudios de ballenas.
- Como el empleo del dardo permitía la obtención no letal de tejidos susceptibles de ser empleados en los estudios de biomarcadores de contaminación, su uso fue asimismo debatido en el “Workshop Internacional sobre Biomarcadores No Destructivos” que se celebró en Siena (Italia) en 1991) y, después de su evaluación en 1994⁹, ha sido incorporado entre las técnicas al uso en estas investigaciones.
- En las últimas dos décadas, además de las organizaciones más arriba mencionadas, otras organizaciones internacionales, como el Acuerdo para la Conservación de los

⁶ Wenzel F, Nicolas J, Larsen F, Pace RM 3rd. 2010. *Northeast Fisheries Science Center Cetacean Biopsy Training Manual*. US Dept Commer, Northeast Fish Sci Cent Ref Doc. 10-11; 18 p. Disponible online en: <http://www.nefsc.noaa.gov/nefsc/publications/>

⁷ Lambertsen, R., H. 1987. A biopsy system for large whales and its use for cytogenetics. *Journal of Mammalogy*, 68:443-445.

⁸ Palsboll, P. J., Larsen, F. & Hansen, D. E. S. 1991. Sampling of skin biopsies from free-ranging large cetaceans in west Greenland: Development of new biopsy tips and bolt designs. *Report of the International Whaling Commission (Special Issue 13):71-79*.

⁹ Aguilar, A. & Borrell, A. (1994): Assessment of organochlorine pollutants in cetaceans by means of skin and hypodermic biopsies. En: "*Nondestructive Biomarkers in Vertebrates*", M. C. Fossi & C. Leonzio (eds). Lewis Publishers, Boca Raton (USA). pp: 245-267. ISBN: 0-87371-648-5.

Cetáceos del Mar Negro y el Mar mediterráneo (ACCOBAMS)¹⁰, el Acuerdo para la Conservación de los Cetáceos del Mar del Norte¹¹ de la Convención de Bonn, la American Cetacean Society¹² o la Fundación italiana Tethys¹³, han adoptado la técnica de biopsiado de cetáceos entre sus protocolos de estudio de cetáceos.

COMUNICACION

Al tratarse de una herramienta de uso científico, el impacto de su uso se produce primordialmente en el entorno científico-técnico. Esto no detrae, sin embargo, de que el empleo de la técnica haya tenido un papel protagonista en diversos reportajes divulgativos en medios de comunicación sobre contaminación marina o sobre biología de cetáceos.

Algunos ejemplos, que desde luego no pretenden ser una enumeración ni exhaustiva ni representativa, son el realizado por el programa *Fast Forward* de TV3 en 2002, basado en los programas de monitoreo de la contaminación marina realizados por la Universidad de Barcelona, el artículo monográfico sobre las amenazas que sufren los cetáceos titulado “La debilidad del Gigante” en la revista *Buceadores* en abril de 2001, o los diversos reportajes cortos que aparecen sobre la técnica en YouTube, como <http://www.youtube.com/watch?v=L-gynU6Vi7Y>, <http://www.youtube.com/watch?v=Ma5a4dr8VTE> o http://www.youtube.com/watch?v=HD_yPuRCzxc.

¹⁰ Report of the Workshop on obtaining baseline cetacean abundance information for the ACCOBAMS area. 2004. Doc. ACCOBAMS. 31 pp.

¹¹ Reijnders, P.J.H.; Donovan, G.P.; Bjoerge, A.; Kock, K.H.; Scheidat, M. 2009. ASCOBANS Conservation Plan for Harbour Porpoises (*Phocoena phocoena* L.) in the North Sea Report of the 16th meeting of the ASCOBANS Advisory Committee, Brugge, Bélgica.

¹² <http://www.acsonline.org/aboutus/policy/biopsy-darts.html>

¹³ Fossi M.C., Marsili L., Neri G., Casini S., Bearzi G., Politi E., Zanardelli M., Panigada S. 2000. Skin biopsy of Mediterranean cetaceans for the investigation of interspecies susceptibility to xenobiotic contaminants. *Marine Environmental Research* 50:517-521.